

Université de Montréal

**Altération spécifique de l'interaction entre les systèmes
olfactif et trigéminal dans la maladie de Parkinson.**

par Cécilia Tremblay

Programme de sciences biomédicales

Faculté de médecine

en extension à l'Université du Québec à Trois-Rivières

Thèse présentée

en vue de l'obtention du grade de Philosophiæ Doctor (Ph.D.)

en sciences biomédicales

Octobre, 2020

© Cécilia Tremblay, 2020

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

Résumé

Le trouble de l'odorat est un symptôme fréquent bien connu de la Maladie de Parkinson (MP). Il apparaît plusieurs années avant la possibilité d'un diagnostic de la maladie et son étude est ainsi d'intérêt particulier pour aider au développement d'outils de dépistage précoces et la sélection de candidats pouvant participer à des essais cliniques visant le développement de traitements potentiellement curateurs. Pour ce faire, il est important de différencier un trouble de l'odorat associé à la MP d'autres troubles de l'odorat non reliés à une maladie neurodégénérative (trouble de l'odorat non-parkinsonien : TONP), tels que des troubles de l'odorat liés à une infection virale, à un traumatisme craniocérébral ou des troubles sinu-nasaux. Le système olfactif est plus complexe qu'il ne le semble et est intimement lié au système trigéminal, un système moins bien connu, qui permet, entre autres, la perception de sensations de fraîcheur, chaleur et picotement des odeurs. L'interaction entre les systèmes olfactif et trigéminal est complexe et peu connue. La sensibilité trigéminal est typiquement réduite dans le cas d'un système olfactif altéré dans les TONP, mais il n'est pas bien compris comment les deux systèmes interagissent ensemble dans le cas d'un trouble de l'odorat associé à la MP.

L'objectif principal de cette thèse visait donc la caractérisation du trouble de l'odorat associé à la MP lorsque spécifiquement comparé à des patients atteints de TONP. Par conséquent, cette thèse avait aussi pour objectif d'apporter une meilleure compréhension de l'interaction entre les systèmes olfactif et trigéminal dans le cas d'un système olfactif fonctionnel et d'un système olfactif altéré dans la MP et d'autres TONP.

Nous avons donc d'abord évalué la sensibilité olfactive et trigéminal, sur le plan comportemental (**étude 1**). Cette première étude a permis d'identifier un patron de réponse spécifique dans la MP avec un système olfactif altéré et un système trigéminal intact, en comparaison à des contrôles, en contraste à une sensibilité trigéminal réduite dans les TONP.

Dans le même ordre d'idée, nous avons ensuite évalué la perception des dimensions trigéminales et olfactives de différentes odeurs (**étude 2**). Nos résultats suggèrent que la perception de sensations trigéminales est intacte chez les patients avec la MP en contraste à la perception de dimensions olfactives qui est réduite, comparativement à des contrôles.

Pour mieux comprendre l'interaction entre le système olfactif et trigéminal dans le cas d'un système olfactif fonctionnel, nous avons ensuite évalué l'impact d'un stimulus olfactif sur la capacité à latéraliser un stimulus trigéminal chez des participants contrôles (**étude 3**). Cette étude a démontré un effet d'amplification de la réponse trigéminal lors d'une co-stimulation olfactive ipsilatérale suggérant ainsi une interaction au niveau de l'épithélium nasal.

Afin de mieux comprendre la réponse trigéminal dans la MP, nous avons évalué la sensibilité trigéminal périphérique et centrale en réponse à un stimulus trigéminal pur via des mesures électrophysiologiques (**étude 4**). Nous avons ainsi démontré une altération spécifique de la réponse trigéminal dans la MP comparativement à d'autres TONP et à des contrôles.

Puisque le bulbe olfactif est l'une des premières régions affectées dans la MP, nous avons ensuite mesuré le volume du bulbe olfactif sur des images IRM (**étude 5**). Nos résultats ont démontré un volume réduit dans la MP et les TONP comparativement à des contrôles, mais aucune différence entre les patients atteints de la MP et de TONP. Néanmoins, l'utilisation de techniques d'apprentissage profond sur les images IRM du bulbe olfactif a permis de différencier les patients avec la MP des TONP avec une exactitude considérable.

Enfin, nous avons étudié la connectivité fonctionnelle au sein du réseau chimiosensoriel (**étude 6**). Nous avons ainsi identifié des altérations spécifiques de la connectivité et la modularité des réseaux entre des régions de traitement olfactif et trigéminal au repos et lors de la réalisation d'une tâche olfactive et d'une tâche trigéminal chez des patients atteints de la MP en comparaison avec des TONP et des contrôles.

En conclusion, la série d'études présentée dans cette thèse contribue à une meilleure compréhension du trouble de l'odorat associé à la MP et propose de potentielles pistes pour le différencier d'autres TONP, notamment par la mesure du système trigéminal. Cette thèse apporte une meilleure compréhension de l'interaction entre le système olfactif et trigéminal dans un système olfactif fonctionnel et de son altération dans les troubles olfactifs associés à la MP ou à d'autres TONP. La caractérisation de ce symptôme non-moteur pourra éventuellement aider au développement d'outils de dépistage précoce de la MP.

Mots-clés : maladie de Parkinson, trouble de l'odorat, système trigéminal, olfaction, interaction, bulbe olfactif, test de latéralisation, électrophysiologie, connectivité fonctionnelle

Abstract

Olfactory dysfunction is a highly reliable non-motor symptom of Parkinson's disease (PD) that appears several years before the possibility of a diagnosis of the disease. Hence, its study is of particular interest to help the development of early diagnosis tools and the selection of ideal candidates to participate in clinical trials that aims to test potential neuroprotective treatments. To do so, it is important to differentiate PD-related olfactory dysfunction from other non-neurodegenerative forms of olfactory dysfunctions that can be related to infections, head trauma or sinonasal disease (non-parkinsonian olfactory dysfunction: NPOD). The olfactory system is more complex than it seems and is intimately connected to the trigeminal system, a less well-known system, that allows, amongst others, the perception of sensation of freshness, warmth, and piquancy of odors. The interaction between the olfactory and trigeminal system is complex and not well understood. Trigeminal sensitivity is typically reduced in cases of an impaired olfactory system related to NPOD; however, this is not clear how both systems interact together in PD-related olfactory dysfunction.

The main objective of this thesis was to principally characterize PD-related olfactory dysfunction when specifically compared to patients with NPOD. Consequently, this thesis also aimed to bring a better understanding of the interaction between the olfactory and trigeminal system in a fully functional olfactory system as well as in alterations of the olfactory system associated with PD and other NPOD.

We have thus first assessed the olfactory and trigeminal sensitivity using behavioral measures (**study 1**). This study allowed the identification of a specific response pattern in PD patients with an altered olfactory system and an intact trigeminal system, when compared to controls, in contrast to the reduced trigeminal sensitivity observed in NPOD.

We then evaluated the perception of trigeminal and olfactory dimensions of different odors (**study 2**). Our results suggest that the perception of trigeminal sensations is intact in patients with PD in contrast to the perception of olfactory dimensions which is reduced when compared to control participants.

To better understand the interaction between the olfactory and trigeminal systems in a functioning olfactory system, we evaluated the impact of an olfactory stimulus on the capacity to lateralize a trigeminal stimulus in healthy participants (**study 3**). This study has demonstrated an amplification effect of the olfactory system on the trigeminal system particularly during ipsilateral co-stimulation, suggesting an interaction at the level of the olfactory mucosa.

To better understand the trigeminal response in PD patients, we further investigated the peripheral and central trigeminal sensitivity in response to a pure trigeminal stimulus by means of electrophysiological measurements (**study 4**). We thus demonstrated a specific alteration of the trigeminal response in PD patients when specifically compared to patients with NPOD and healthy control participants.

As the olfactory bulb is one of the first regions to be affected in PD, we then measured the olfactory bulb volume on MRI scans (**study 5**). Our results showed reduced olfactory bulb volume in PD patients as well as in NPOD, when compared to controls, but no difference between PD and NPOD patients. Interestingly, the use of deep learning techniques on MRI scans of the olfactory bulb allowed the discrimination between PD patients and NPOD patients with considerable accuracy.

Finally, we investigated the functional connectivity within the chemosensory network (**study 6**). We identified a specific pattern of functional connectivity and chemosensory network modularity in PD patients at resting-state and while performing an olfactory or a trigeminal task, when specifically compared to patients with NPOD and controls.

In conclusion, all taken together, the studies presented in this thesis contributes to a better understanding of the PD-related olfactory dysfunction and suggest potential avenues to differentiate it from NPOD, notably through the measurement of the trigeminal system. This thesis brings further knowledge regarding the interaction between the olfactory and trigeminal systems in a functional olfactory system and its alteration in cases of an impaired olfactory system related to PD or NPOD. The characterization of this non-motor symptom of the disease will eventually help the development of early diagnostic tools for PD.

Keywords: Parkinson's disease, olfactory dysfunction, trigeminal system, olfaction, interaction, olfactory bulb, lateralization task, electrophysiology, functional connectivity

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	iii
Table des matières.....	v
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures	ix
Liste des sigles	x
Liste des abréviations.....	xii
Remerciements.....	xiv
Chapitre 1. Introduction.....	1
1.1. La maladie de Parkinson.....	1
1.1.1. Symptomatologie et épidémiologie	1
1.1.2. Étiologie.....	2
1.1.3. Pathophysiologie et pathogenèse	2
1.1.4. Le diagnostic de la maladie.....	6
1.1.5. Stratégies neuroprotectrices	7
1.1.6. Phase prodromale de la MP	8
1.2. Les systèmes chimiosensoriels	12
1.2.1. Le système olfactif.....	12
1.2.2. Le système trigéminal	17
1.2.3. L'interaction entre le système olfactif et le système trigéminal	20
1.2.4. Les altérations de l'odorat.....	23
1.2.5. Altération de la fonction trigéminale dans les troubles de l'odorat	30
1.3. Le trouble de l'odorat dans la maladie de Parkinson.....	34
1.3.1. Patron clinique et généralités	34
1.3.2. Autres altérations chimiosensorielles dans la MP	35
1.3.3. Altérations liées au trouble de l'odorat dans la MP	36

1.3.4.	L'odorat dans le diagnostic et le diagnostic précoce	44
1.3.5.	Diagnostic différentiel d'autres syndromes parkinsoniens	46
1.3.6.	Diagnostic différentiel d'autres troubles de l'odorat	46
1.4.	Objectifs et hypothèses	48
1.4.1.	Objectifs et hypothèses spécifiques	48
1.5.	Considérations méthodologiques	51
1.5.1.	Électrophysiologie du système olfactif et trigéminal.....	51
1.5.2.	Imagerie par résonnance magnétique et différentes applications utilisées dans cette thèse.....	54
1.5.3.	Participants et recrutement.....	59
Chapitre 2.	Article 1 – Trigeminal system in Parkinson's Disease: A potential avenue to detect Parkinson-specific olfactory dysfunction.....	62
Chapitre 3.	Article 2 – Chemosensory perception is specifically impaired in Parkinson's disease.	78
Chapitre 4.	Article 3 – Olfactory and trigeminal systems interact in the periphery.....	90
Chapitre 5.	Article 4 – Specific intranasal and central trigeminal electrophysiological responses in Parkinson's disease.	106
Chapitre 6.	Article 5 – Olfactory bulb surroundings can help to distinguish Parkinson's disease from non-parkinsonian olfactory dysfunction.....	129
Chapitre 7.	Article 6 – Parkinson's disease affects functional connectivity within the olfactory-trigeminal network.	159
Chapitre 8.	Discussion générale et conclusion	188
8.1.	Contribution et résumé des résultats	188
8.2.	L'altération du système olfactif dans la MP	189
8.2.1.	Altération olfactive sur le plan comportemental.....	189
8.2.2.	Altération du bulbe olfactif.....	189
8.2.3.	Altération centrale de la connectivité fonctionnelle et la modularité lors de la réalisation d'une tâche olfactive	191
8.3.	La réponse trigéminal dans la MP.....	193

8.3.1.	Réponse trigéminal sur le plan comportemental	193
8.3.2.	Réponse trigéminal sur le plan électrophysiologique	194
8.3.3.	Réponse centrale de la connectivité fonctionnelle et la modularité lors de la réalisation d'une tâche trigéminal	196
8.4.	L'interaction entre le système olfactif et trigéminal ainsi que son altération	197
8.4.1.	Interaction dans le cas d'un système olfactif fonctionnel	197
8.4.2.	Interaction dans le cas d'un système olfactif altéré associé à un TONP	198
8.4.3.	Un modèle de l'interaction entre le système olfactif et trigéminal dans la MP 200	
8.5.	Limites, recherche et développements futurs.....	204
8.5.1.	Phase prodromale et précoce la MP	204
8.5.2.	Développement d'outils de dépistage	205
8.5.3.	Mesure de la fonction trigéminal	206
Conclusion		208
Bibliographie.....		210
Annexe 1: Improving the Assessment of Trigeminal Sensitivity: a Pilot Study		i
Annexe 2: Orthonasal, but not Retronasal Olfaction Is Specifically Impaired in Parkinson's Disease		xv

Liste des tableaux

Table 2-1. A. Characteristics of study population and main results	66
Table 3-1. Characteristics of the study population.....	81
Table 3-2. List of odorants, concentrations used and manufacturer	83
Table 4-1. Odors and concentrations used in each experiment.....	94
Table 4-2. Localization scores for each condition	97
Table 5-1. Characteristics of study population and main results	111
Table 6-1. Participants' characteristics	138
Table 6-2. Scan-level performance of the CNN when classifying the training, and test samples.	145
Table 7-1. Participants' characteristics	165
Table 7-2. Demographic, non-motor symptoms, and co-morbidities information for each PD patient.....	166
Table 7-3. Brain coordinates of the selected regions of interest	170

Liste des figures

Figure 1-1. Schématisation de la phase précoce, prodromale et clinique de la MP.....	9
Figure 1-2. Schéma illustrant les différentes branches du nerf trijumeau et sa proximité avec le système olfactif.....	19
Figure 2-1. Olfactory and trigeminal sensitivity	70
Figure 2-2. Accuracy of the localization task	70
Figure 2-3. Perceptual ratings of odors.....	71
Figure 3-1. Perceptual rating of odorants.....	85
Figure 4-1. Conditions of the localization task.	95
Figure 4-2. Localization task.	97
Figure 5-1. Peripheral negative mucosa potential response.....	117
Figure 5-2. Central event-related potential response.	118
Figure 5-3. Psychophysical assessments.....	119
Figure 5-4. Discriminant analysis between groups.....	120
Figure 6-1. Convolutional neural network pre-processing steps and architecture.....	141
Figure 6-2. Olfactory bulb volume and correlations with olfactory function.....	143
Figure 6-3. Example of scan-level classification of the test set.....	144
Figure 6-4. Result of the CNN represented in confusion matrices	145
Figure 6-5. Grad-CAM activation maps	146
Figure 6-6 : Supplementary figure.....	150
Figure 7-1. fMRI design.....	168
Figure 7-2. Schematic localization of the selected regions of interest.....	170
Figure 7-3. Functional connectivity matrices	173
Figure 7-4. Community detection of brain networks and modularity distribution.	175
Figure 7-5. Supplementary figure	180
Figure 8-1 : Modèle d'interaction entre le système olfactif et trigéminal proposé.....	202

Liste des sigles

AChE: Acétylcholinestérase

ALE: *Activation likelihood estimation*

AUC: *Area under the curve*

BOLD: *Blood oxygen level dependent*

CNN: *Convolutional neural network*

CIUSSS – MCQ: Centre intégré Universitaire de santé et services sociaux de la Mauricie-et-du-Centre-du-Québec

CO₂: Dioxyde de carbone

EEG: Électrophysiologie

EPI: *Echo-planar imaging*

ERP: *Event-related potential*

FOV: *Field of view*

FRQS : Fonds de recherche en santé du Québec

GABA: Acide gamma-aminobutyrique

Grad-CAM: *Gradient-weighted class activation mapping*

H₂S: Sulfure d'hydrogène

H&Y: *Hoehn & Yahr Stage*

IRM : Imagerie par résonance magnétique

IRMf : Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle

ISI : *Inter stimulus interval*

IUGM : Institut universitaire de gériatrie de Montréal

LEDD: *Levodopa equivalent daily dose*

LCR: Liquide céphalorachidien

MDS: *Movement disorder society*

MoCA: *Montreal cognitive assessment*

MNI: *Montreal Neurological Institute*

MP: Maladie de Parkinson

MPTP: 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine

NMP: *Negative mucosa potential*

NPOD: *Non-parkinsonian olfactory dysfunction*

OD: *Olfactory dysfunction*

OFC: *Orbitofrontal cortex*

ORL: Oto-rhino-laryngologiste

PD: *Parkinson's disease*

PG: *Propylene glycol*

PEA: Phenyléthanol

PRCG: Peptide relié au gène calcitonine

Q: *Modularity*

RBD: *Rapid-eye movement sleep behavior disorder*

ROI: *Region of interest*

ROC: *Receiver operating characteristic*

SDI: Seuil, Discrimination, Identification

SNC: Système nerveux central

SNP: Système nerveux périphérique

TE : *Echo time*

TCC: Traumatisme cranio-cérébral

TEP: Tomographie par émission de positrons

TEMP: Tomographie par émission monophotonique

TONP: Trouble de l'odorat non parkinsonien

TR: *Repetition time*

TRP: Canaux potentiels des récepteurs transitoires

TDI: *Threshold, Discrimination, Identification (olfactory score)*

TMS: Stimulation magnétique transcrânienne

TCSP: Trouble comportemental en sommeil paradoxal

UNF: Unité de neuroimagerie fonctionnelle

UKPDSBB: *United Kingdom Parkinson's disease society brain bank*

UPSIT: *University of Pennsylvania smell identification test*

UQTR: Université du Québec à Trois-Rivières

Liste des abréviations

μV : Microvolts

Hz: Hertz

mA: Milliampère

mg: Milligrammes

ml: Millilitres

ms: Millisecondes

s: Secondes

yrs: *Years*

No one said it would be easy, just that it would be worth it.

Remerciements

Je tiens d'abord à remercier mon directeur de recherche, merci Johannes principalement pour ta confiance et la liberté que tu m'as accordée, pour ta rétroaction rapide et efficace, ton attitude positive, ton soutien et toutes les notions que tu m'as apprises en recherche. Merci de m'avoir fait sortir de ma zone de confort et de m'avoir permis d'élargir mes horizons via des opportunités de voyages et de contact.

Merci à tous les collaborateurs, sans qui ces travaux n'auraient pas pu être possibles. Merci à Émilie pour l'équipe extraordinaire que nous formons. Thanks, Jie for your hard work with everything related to machine learning. Merci à toute l'équipe du laboratoire de Dresden particulièrement à Thomas, Antje, Annacharia et Rosa. Merci à toute l'équipe du laboratoire Stockholm particulièrement à Johan et Behzad. Merci de m'avoir accueillie dans vos laboratoires, les expériences réalisées au cours de ces stages de recherches ont été moi extrêmement inspirantes. Merci à Dre Durand-Martel et au service de neurologie du CIUSSS – MCQ. Merci aussi aux organismes subventionnaires qui ont supporté ces travaux notamment les fonds de recherche du Québec en Santé, Parkinson Québec, Parkinson Canada, le Réseau de Bio-imagerie du Québec et la Chaire de recherche en Neuroanatomie Chimiosensorielle.

Merci à tous les participants qui ont contribué à ces études. Merci énormément pour votre temps, vous avez été d'une gentillesse exemplaire et une source d'inspiration dans le développement de ces travaux. Merci aux organismes Parkinson Mauricie et le Réseau Parkinson Québec pour l'aide au recrutement.

Merci à mon jury d'évaluation de prendre le temps d'évaluer et commenter cette thèse.

Merci à l'UQTR, merci aux professeurs et au personnel du département d'anatomie et du laboratoire d'anatomie. Un merci spécial à Gilles qui est toujours un mentor pour moi et la personne qui m'a inspirée à continuer mes études au doctorat.

Merci à mes collègues de laboratoire qui sont devenu(e)s mes ami(e)s et sans qui le chiffre 3470 n'aurait pas la même signification; Geneviève, Émilie, Cindy, Salomé, Daphnée, Syrina, Chloé, Benoit, Renaud, Thierry, Yan et Marc-Olivier. Merci de penser activement à moi, merci pour les petites victoires et le champagne. Merci aux stagiaires qui ont cheminé dans notre

laboratoire et contribué à ces projets de recherche. Merci Gen pour ton écoute, pour les multiples répétitions de ma présentation et pour ton soutien puisqu'à plusieurs reprises tu as trouvé les bons mots pour moi. Merci, Syrina pour tes précieux conseils en tant qu'amie et en tant que Professeure, pour ta présence et ta générosité ainsi que pour ton soutien et ton amitié. Merci, Cindy pour les mots et la rédaction au chalet. Merci Sara d'avoir été ma première amie au doctorat et parce que ça fait toujours du bien de chialer un peu dans les corridors. Merci les filles merci pour les V&V et les belles soirées.

Je tiens aussi à remercier spécialement mes parents qui m'ont appris la valeur du travail bien accompli et qui m'ont dit que je pouvais aller à l'école toute ma vie si je le souhaitais. Merci pour votre amour, votre fierté et votre support tout au long de mes études. Merci à toute ma famille et mes ami(e)s. Merci à ma sœur, Marca-Lila, qui est toujours fière de moi et présente pour moi, même si c'est moi la grande sœur, ainsi qu'à et à mes frères; Izabo, Gimi et Gérico, merci à vous d'être dans ma vie. Merci à ma précieuse amie Alexanne, parce qu'on se comprend toujours dans toutes les étapes de notre doctorat.

Enfin, merci à mon mari, Benoit, puisque depuis le début de mon doctorat tu as toujours été là pour moi. Merci pour ton support constant même quand c'est la fin du monde et malgré la distance. Merci particulièrement pour ta patience, ta compréhension, tes encouragements, ta présence et ton appui dans mon choix de carrière.

Merci d'être dans ma vie.

Je vous aime.

Chapitre 1. Introduction

1.1. La maladie de Parkinson

1.1.1. Symptomatologie et épidémiologie

La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neurologique dégénérative invalidante, d'étiologie mal connue, qui affecte plusieurs systèmes et neurotransmetteurs, se traduisant cliniquement par une atteinte motrice et la présence de divers symptômes non-moteurs.

La maladie est typiquement caractérisée par l'apparition des troubles moteurs tels que le tremblement au repos, la rigidité, la bradykinésie ainsi que l'instabilité posturale. De plus, une multitude de symptômes non-moteurs, qui sont maintenant plus reconnus et étudiés, sont aussi observés présentant un patron clinique très hétérogène (Simuni *et al.*, 2018). Certains profils de la maladie étant dominés par la présence de symptômes non-moteurs (Marras et Chaudhuri, 2016). Ils peuvent inclure, entre autres, (1) des troubles de la fonction autonome soit des troubles gastro-intestinaux dont la constipation, des troubles urinaires, des dysfonctions sexuelles et des dysfonctions cardiaques; (2) des troubles cognitifs, la démence, la dépression, l'anxiété, l'apathie, le trouble du contrôle des impulsions, des hallucinations et la psychose; (3) des troubles du sommeil dont l'insomnie, une fragmentation du sommeil, le syndrome des jambes sans repos, le trouble du comportement en sommeil paradoxal (TCSP) ainsi que la fatigue excessive de jour et (4) des perturbations sensorielles incluant des troubles visuels, un trouble de l'odorat, de la douleur et une hypersensibilité à la douleur (Schapira *et al.*, 2017).

La MP est reconnue pour affecter plus de 100 000 Canadiens (Tysnes et Storstein, 2017). La prévalence mondiale est estimée autour de 100 à 300 par 100 000 habitants. (Dorsey *et al.*, 2007; Pringsheim *et al.*, 2014), avec plus de 305 000 nouveaux patients diagnostiqués par année (Wong *et al.*, 2014). La MP représente une cause fréquente de morbidité et augmente les risques de mortalité de deux fois plus comparativement à la population générale (Tysnes et Storstein, 2017).

1.1.2. Étiologie

La cause de la MP n'est toujours pas clairement connue. Elle est multifactorielle et semble résulter de la combinaison de facteurs environnementaux et d'une prédisposition génétique. La cause de la maladie peut être identifiée dans de rares cas génétiques de la maladie soit chez environ 5-10% des patients atteints (Nalls *et al.*, 2015). Lorsqu'aucun facteur spécifique n'est associé à son développement, elle est désignée de MP sporadique, ce qui est la forme la plus fréquente, touchant plus de 90% des patients.

Différents facteurs environnementaux, qu'il s'agisse d'un milieu, d'un style de vie ou d'une exposition à une substance toxique, ont été reliés à une augmentation des risques de développer la MP (Noyce *et al.*, 2012). Certaines toxines ont été associées au développement de parkinsonisme dont le MPTP, les pesticides et herbicides incluant le paraquat et la roténone, certains solvants ainsi que certains métaux lourds (Jankovic, 2005; Lai *et al.*, 2002; Langston *et al.*, 1983). De plus, une augmentation de la prévalence est observée dans les milieux urbains, où elle serait reliée à l'industrialisation, mais aussi dans les milieux ruraux impliquant la production agricole (Cagac, 2020; Petrovitch *et al.*, 2002).

La contribution des facteurs génétiques est associée avec le fait qu'un historique familial de MP est relié à une augmentation des risques de développer la maladie, soit de deux à trois fois plus élevés, lorsqu'un membre de la famille au premier degré est atteint de la maladie (Savica *et al.*, 2016). Les formes génétiques de la maladie sont liées à des mutations de certains gènes, plus de 18 loci et 11 gènes ont été identifiés comme étant impliqués dans les formes monogéniques tels que SNCA, LRRK2, Parkin, PINK1, DJ-1, etc. (Nalls *et al.*, 2019). Plusieurs de ces mutations représentent des facteurs de risques importants de la forme sporadique de la maladie, plus de 90 mutations ayant été identifiées (Nalls *et al.*, 2019).

1.1.3. Pathophysiologie et pathogenèse

1.1.3.1. Dégénérescence dopaminergique

La MP est principalement caractérisée par une dégénérescence irréversible des neurones dopaminergiques de la substance noire du mésencéphale. Cette mort neuronale entraîne un déficit dopaminergique de la voie nigro-striée du striatum et des projections extra-striatales

affectant les circuits moteur et limbique des ganglions de la base. Ces structures sont, entre autres, responsable de l'initiation et du contrôle des mouvements, ainsi la perte massive et progressive de ces neurones est à l'origine des symptômes moteurs observés. Ceux-ci se manifestent lorsqu'environ 60% des neurones ont dégénéré et qu'une réduction de dopamine d'environ 80% est observée (Fearnley *et* Lees, 1991). Les symptômes se détériorent ensuite avec la mort neuronale et la progression de la maladie (Hirsch *et al.*, 2013).

1.1.3.2. Corps de Lewy

La formation des corps de Lewy est une caractéristique pathologique importante dans le développement de la MP, qui est essentielle à son diagnostic définitif post-mortem. Ceux-ci sont des agrégats pathologiques éosinophiles de nature fibrillaire qui sont constitués de nombreuses protéines, dont la principale est l' α -synucléine (Spillantini *et* Goedert, 2013). L' α -synucléine est une petite protéine, abondante dans le tissu neuronal, localisée au niveau présynaptique, qui a un rôle potentiel dans la formation des vésicules, la transmission et la plasticité synaptique ainsi que la synthèse de neurotransmetteurs (Cheng *et al.*, 2011). En condition pathologique, la protéine se replie anormalement et devient insoluble, elle mène ainsi à la formation de fibrilles qui s'agrègent pour former des inclusions intracellulaires dans les corps cellulaires, les corps de Lewy, et dans les prolongements neuronaux, les neurites de Lewy (Goedert *et al.*, 2013).

1.1.3.3. Propagation et distribution des corps de Lewy

Les corps de Lewy sont retrouvés dans diverses régions du système nerveux central (SNC) et périphérique (SNP) dans la MP. Différents mécanismes ont été proposés pour expliquer comment ces agrégats peuvent se propager, bien que le mécanisme exact demeure mal connu. La configuration anormale de la protéine α -synucléine lui donnerait la capacité de se transmettre de cellule en cellule par des mécanismes impliquant son relâchement dans le milieu extracellulaire et l'assimilation de celle-ci par les cellules avoisinantes dans lesquelles des inclusions pathologiques s'y développeraient (Vargas *et al.*, 2019; Visanji *et al.*, 2013).

Le modèle de Braak

L'apparition et la distribution spatiale des corps de Lewy dans le cerveau ne sont pas aléatoires, mais présentent un patron de propagation stéréotypé. Les travaux de Braak et ses collègues, basés sur des investigations neuropathologiques approfondies de plusieurs patients à

différents stades de la MP, ont mené à la conceptualisation d'un modèle de propagation des corps de Lewy (Braak *et al.*, 2002; Braak *et al.*, 2003a). Selon les stades de propagation proposés, les agrégats pathologiques apparaissent initialement, au stade 1, dans le bulbe olfactif ainsi que dans le noyau moteur dorsal du nerf vague. Au stade 2, la pathologie se développe dans la moelle allongée et le tegmentum atteignant le locus coeruleus, la formation réticulaire, et le noyau raphé. Au stade 3, la substance noire du mésencéphale est atteinte, en concordance avec l'apparition des symptômes moteurs. Une atteinte du cerveau antérieur basal et du système limbique est aussi observée. Au stade 4, le thalamus et l'hypothalamus sont atteints et la maladie se propage dans le lobe temporal. Dans les stades 5 et 6, la maladie continue de se détériorer et atteint le néocortex affectant le cortex associatif, l'insula et des aires corticales primaires. Les corps de Lewy se retrouvent aussi dans la moelle épinière et dans différentes régions du SNP dont le cœur, le tractus gastro-intestinal, les glandes submandibulaires, la peau et dans le système nerveux entérique, à l'origine du développement de plusieurs symptômes non-moteurs de la maladie (Beach *et al.*, 2010; Gelpi *et al.*, 2014). La progression de la maladie et le patron clinique observé concordent avec la progression des corps de Lewy selon les différents stades de la MP. Ce schéma de propagation a été validé par d'autres groupes de recherche et ce modèle serait présent dans plus de 90% des cas (Dickson *et al.*, 2010; Kingsbury *et al.*, 2010).

Autres modèles de propagation

Bien que ce modèle soit largement utilisé, des critiques importantes ont été posées. Ainsi, un autre modèle de propagation qui explique plus la variabilité observée a été proposé, soit le « Unified Staging System for Lewy Body Disorders » (Adler et Beach, 2016; Beach *et al.*, 2009a). Dans ce modèle, qui diffère légèrement du modèle de Braak, le stade 1 consiste en l'implication exclusive du bulbe olfactif, ce qui concorde avec les investigations neuropathologiques montrant plusieurs cas d'atteintes isolées du bulbe olfactif. Ce modèle présente ensuite deux voies qui peuvent être empruntées, le stade 2a, qui correspond à une atteinte principalement du tronc cérébral ou le stade 2b qui correspond à une atteinte principale du système limbique, qui concordent respectivement avec l'apparition de symptômes moteurs et d'un trouble cognitif léger. Le stade 2 correspond aussi à une atteinte de la moelle épinière et au début de l'atteinte du SNP incluant le tractus gastro-intestinal, à l'origine de symptômes gastro-intestinaux et autres symptômes qui se manifestent aussi dans un stade précoce. Le stade 3 constitue le stade ou une

atteinte similaire est présente dans le tronc cérébral et le système limbique, alors que le stade 4 implique l'atteinte du néocortex à l'origine de symptômes cognitifs plus sévères.

1.1.3.4. Théories proposées et mécanismes impliqués dans la MP

Hypothèse à double coup liée à l'invasion par un agent extérieur

Une hypothèse pour expliquer d'où et de comment provient initialement la maladie est que celle-ci pourrait être causée par l'entrée d'un pathogène du milieu externe qui se propagerait dans le SNC (Braak *et al.*, 2003b; Hawkes *et al.*, 2007). Cette hypothèse est basée sur le fait que la maladie progresse de façon similaire à une maladie à prion. D'où le concept de l'hypothèse à double coup, qui propose qu'à la fois la voie nasale et le tractus gastro-intestinal constituent tous deux des points d'entrées, par le nez ou la bouche, possibles par une toxine ou un micro-organisme de l'environnement extérieur. La maladie se propagerait ensuite du bulbe olfactif vers le cortex olfactif et le lobe temporal puis ensuite dans d'autres régions non olfactives. En parallèle, la maladie se propagerait de l'intestin vers le SNC par un mécanisme impliquant une transmission rétrograde via le nerf vague (Bullich *et al.*, 2019). Bien que controversée, cette théorie gagne beaucoup d'attention et ce concept apporte une possible explication au fait que le bulbe olfactif et le noyau dorsal du nerf vague sont les premières structures impliquées dans la pathologie, en lien avec les atteintes précoces de l'odorat et du système gastro-intestinal.

Autres mécanismes cellulaires et non cellulaires

Des théories alternatives argumentent qu'il s'agit plutôt d'une maladie systémique liée à une dysfonction neuronale généralisée impliquant différents mécanismes dont principalement l'agrégation protéique (Uchihara et Giasson, 2016). La progression de la maladie serait ainsi plutôt reliée à une vulnérabilité et à la réserve fonctionnelle des neurones, certains neurones présentant un phénotype préexistant qui les rendrait plus vulnérables (Engelender et Isacson, 2017; Obeso *et al.*, 2017). Différents mécanismes cellulaires sont effectivement associés à la dégénérescence neuronale incluant le stress oxydatif, la dysfonction mitochondriale, les altérations du système ubiquitine-protéasome et des lysosomes, l'agrégation protéique, l'autophagie et l'excitotoxicité (Tarozzi, 2020). D'autres mécanismes non-cellulaires incluent

la propagation des agrégats d' α -synucléine, la dégénérescence progressive des neurones dopaminergiques et non-dopaminergiques ainsi que l'inflammation (Brás *et al.*, 2020).

Les mécanismes spécifiques sous-jacents à la MP sont encore mal connus et mal compris. Il demeure encore controversé à savoir si c'est le SNC qui est atteint en premier ou si c'est le SNP ou bien si deux mécanismes peuvent être retrouvés à l'origine de deux phénotypes différents (Adler et Beach, 2016; Borghammer, 2018; Borghammer et Van Den Berge, 2019; Breen et Lang, 2017).

1.1.4. Le diagnostic de la maladie

Le diagnostic de la MP est long et difficile à poser. Il n'existe encore aucun biomarqueur objectif de la maladie permettant de confirmer un diagnostic. Celui-ci est donc principalement basé sur l'examen clinique et supporté par l'imagerie dopaminergique et la présence de symptômes non-moteurs. Le diagnostic clinique est donc malheureusement posé tard dans le développement de la MP, à un stade avancé de neurodégénérescence.

La certitude diagnostique n'est pas possible au cours de la vie, le diagnostic définitif est seulement confirmé post-mortem (Braak *et al.*, 2002). Un diagnostic clinique erroné est donc courant. L'exactitude du diagnostic peut varier en fonction de la durée de la maladie, de l'âge du patient ou de l'expertise du clinicien, elle varie entre 65 à 93% (Hughes *et al.*, 2001), une méta-analyse ayant rapporté une exactitude moyenne de 80,3% (Rizzo *et al.*, 2016). Une étude multicentrique, utilisant les critères récents de diagnostic de la « *Movement Disorders Society* » (MDS), a rapporté une exactitude diagnostique clinique de 92% (Postuma *et al.*, 2018).

Diagnostic précoce et prodromal

En raison du caractère progressif de la maladie, elle est d'autant plus difficile à diagnostiquer à son début. En effet, un diagnostic posé lors d'une première visite est souvent changé après un suivi. L'exactitude moyenne d'un diagnostic initial étant autour de 79% (Adler *et al.*, 2014; Rizzo *et al.*, 2016). L'exactitude chez des patients nouvellement diagnostiqués, jamais traités par médication dopaminergique, est très basse, le diagnostic ayant été confirmé en neuropathologie chez seulement 26% des patients (9/34) (Adler *et al.*, 2014). Chez des patients répondant positivement à la médication dopaminergique, un diagnostic posé dans un intervalle de moins de 5 ans a été confirmé chez 53% des patients, alors qu'il est confirmé chez

88% des patients lors d'une durée de plus de 5 ans (Adler *et al.*, 2014). Les critères présents ne permettent malheureusement pas de dépister la maladie dans un stade précoce.

Cependant, des critères de diagnostic de la phase prodromale, tenant compte de divers symptômes non-moteurs et facteurs de risques, ont été proposés principalement à des fins de recherche et permettent d'estimer la probabilité qu'un individu soit dans la phase prodromale de la MP (Berg *et al.*, 2015; Heinzl *et al.*, 2019). Ils ont été validés à large échelle dans diverses cohortes où ils ont démontré un pouvoir prédictif moyen à élevé. La spécificité et sensibilité de ces critères doivent toutefois être précisées pour améliorer l'exactitude du dépistage en phase prodromale et précoce de la MP (Mahlknecht *et al.*, 2018; Pilotto *et al.*, 2017).

1.1.5. Stratégies neuroprotectrices

À ce jour, aucun traitement ne permet de guérir la maladie, sa dégénérescence est irréversible et incurable. Des traitements symptomatiques, qui visent principalement à soulager les symptômes moteurs, sont utilisés et apportent une amélioration considérable de la qualité de vie des patients. Cependant, la maladie continue de progresser et après quelques années d'administration de Lévodopa, plus de 80% des patients vont développer des fluctuations motrices, une détérioration en fin de dose et des dyskinésies qui peuvent être encore plus incapacitantes que les symptômes moteurs de base. Le développement de traitements ou d'interventions permettant de modifier la course naturelle de la maladie, en ralentissant ou arrêtant la progression de la maladie, est donc d'une importance cruciale pour ces patients.

Il est difficile de développer de tels traitements et plusieurs raisons font en sorte que les approches testées jusqu'à maintenant ont échouées à démontrer un effet neuroprotecteur (Stocchi et Olanow, 2013). D'abord, la compréhension de la pathogenèse de la maladie est faible, il y a une grande hétérogénéité clinique dans les symptômes observés avec différents phénotypes et plusieurs mécanismes impliqués ce qui rend le nombre de cibles possibles très élevé. De plus, il n'existe aucun biomarqueur fiable de la progression de la maladie, qui peut refléter le patron clinique et sa sévérité, ce qui rend l'évaluation de l'impact d'une thérapie et son efficacité difficile. Enfin, le diagnostic de la MP est posé à un stade avancé de la maladie où une dégénérescence importante est présente, ce qui fait en sorte qu'elle est aussi plus résistante à une thérapie. Il y a donc un problème important dans la sélection de patients pour la

participation à des essais cliniques et un intérêt considérable à tester des patients dans la phase prodromale de la maladie. Ce qui entraîne un besoin important de développer des outils de dépistage précoce de la maladie (Stocchi et Olanow, 2013).

Malgré ces limitations, des progrès considérables ont été réalisés dans les dernières années pour le développement de traitements permettant potentiellement de changer la course de la maladie. Bien que différents essais cliniques utilisant, entre autres, la sélégiline, la rasagiline, la coenzyme 10, la mynocyline, la créatine, les agonistes dopaminergiques etc., aient mené à de faibles effets bénéfiques et des résultats inconclusifs, d'autres études prometteuses sont en cours. Des études précliniques ont montré des résultats encourageants en ciblant la protéine α -synucléine. Plus de 25 potentiels traitements agissant sur différentes cibles sont maintenant à l'étude dans des essais précliniques ou cliniques de stade I et II (Fields *et al.*, 2019; Savitt et Jankovic, 2019). D'autres traitements visant la réaction inflammatoire, la réduction d'antioxydant, la dysfonction mitochondriale ou le stress oxydatif sont aussi en cours. Des études cliniques plus larges de phase II et III évaluent le potentiel thérapeutique d'un antioxydant (inosine), du Ca^{2+} cytosolique (isradipine) et d'une molécule visant à diminuer le taux de fer (défériprone). Les nouvelles approches développées se concentrent sur l'utilisation simultanée de plusieurs agents agissant sur différents mécanismes ainsi que sur des interventions personnalisées selon le phénotype du patient (Ryden et Lewis, 2019).

1.1.6. Phase prodromale de la MP

Il est bien établi que la MP débute par une phase prodromale qui est caractérisée par la présence de divers symptômes non-moteurs qui précèdent l'apparition des symptômes moteurs et le diagnostic clinique. La durée de la phase prodromale est estimée de 10 à 20 ans, mais elle est fortement variable en fonction du symptôme en question et de la variabilité interindividuelle dans la progression des symptômes (Hawkes, 2008; Schrag *et al.*, 2019). La caractérisation de cette phase est de haute importance puisqu'elle constitue une fenêtre thérapeutique intéressante pour tester des thérapies potentiellement neuroprotectrices dans le but de prévenir ou ralentir le développement et la progression de la maladie. Il est donc important de mieux comprendre et caractériser les divers symptômes non-moteurs qui s'y manifestent et leur potentiel comme prédicteur de développement de la MP.

La phase prodromale a été étudiée dans diverses larges études épidémiologiques ou prospectives (Berg *et al.*, 2013; Ross *et al.*, 2012; Simuni *et al.*, 2018) qui ont permis de soulever la présence de différents symptômes précoces incluant le trouble de l'odorat, le trouble du comportement en sommeil paradoxal (TCSP), la constipation, les troubles urinaires, la somnolence excessive de jour, les déficits moteurs subtils, la dépression, l'anxiété, le trouble cognitif et l'hypotension (Postuma et Berg, 2019). Pour la majorité de ces symptômes, la sensibilité et la spécificité sont faibles puisqu'ils ne sont pas présents chez tous les patients et qu'ils sont aussi fréquemment rapportés dans la population générale, particulièrement à un certain âge. Parmi ceux-ci, le trouble de l'odorat et le TCSP sont d'un intérêt particulier. Voir Figure 1.1 pour un schéma représentant les phases de la MP.

Figure 1-1. Schématisation de la phase précoce, prodromale et clinique de la MP.

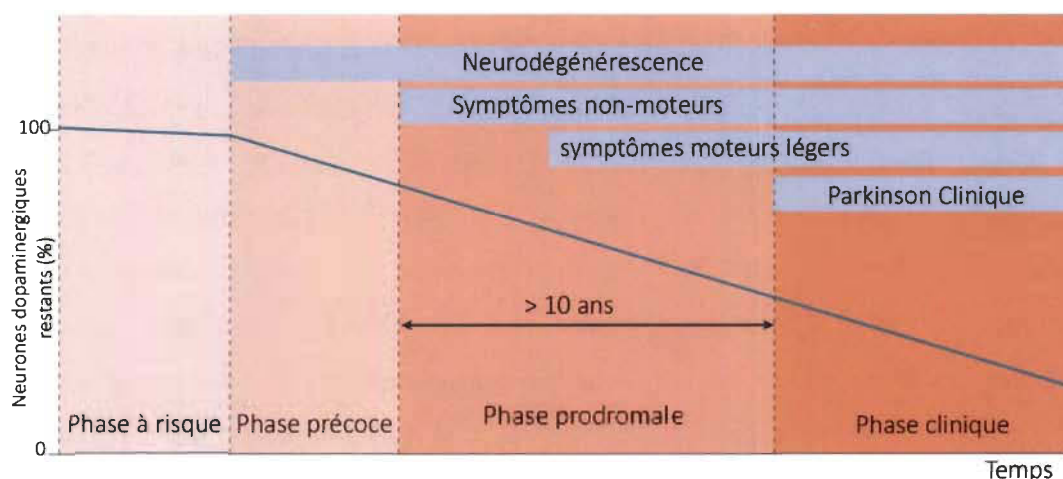


Schéma inspiré de (Postuma et al. 2016)

1.1.6.1. Le trouble de l'odorat

Le trouble de l'odorat est un symptôme très sensible de la MP affectant plus de 90% des patients. Le trouble de l'odorat se manifeste dans la phase précoce de la maladie, plusieurs années avant le développement des symptômes moteurs, d'où l'intérêt d'étudier l'odorat pour le développement d'outils de dépistage précoces de la maladie. Parmi tous les symptômes non-moteurs mentionnés, il est celui le plus constamment rapporté comme un marqueur prédictif de la MP dans différentes études longitudinales. De plus, le pouvoir prédictif d'autres symptômes est augmenté lorsqu'ils sont retrouvés chez des patients avec une perte de l'odorat.

Entre autres, l'odorat a été identifié comme le facteur principal à l'origine de la classification des patients avec la MP et des contrôles avec une exactitude de 92% dans une large étude sur des données de plus de 825 patients utilisant un algorithme de classification (Nalls *et al.*, 2015). Lorsque comparé à des participants contrôles la spécificité est assez haute entre 82 à 99% (Nielsen *et al.*, 2018). Le trouble de l'odorat peut aussi aider à confirmer un diagnostic incertain et s'est avéré utile dans le diagnostic différentiel, lorsque comparé avec d'autres syndromes parkinsoniens. En outre, il est relativement simple de tester l'odorat à un coût plutôt faible (Doty, 2012b).

En revanche, le trouble de l'odorat n'est pas spécifique de la MP et plusieurs autres conditions peuvent être à l'origine d'un trouble de l'odorat, celui-ci affectant plus de 20% de la population générale à un âge avancé (Murphy *et al.*, 2002). Dans une large cohorte de patients avec un trouble de l'odorat idiopathique, seulement 10% des patients ont développé la MP sur un suivi de durée moyenne de 10 ans (Haehner *et al.*, 2019). Il est donc important de différencier un trouble de l'odorat associé à la MP comparativement à d'autres troubles de l'odorat non reliés à une maladie neurodégénérative pour ainsi augmenter la spécificité et la valeur prédictive de ce symptôme. L'utilisation du trouble de l'odorat est ainsi très prometteuse pour aider au dépistage précoce de la maladie. Il est donc hautement pertinent de caractériser un profil spécifique de l'atteinte chimiosensorielle dans la MP. Ce symptôme nous intéressera principalement dans cette thèse, les caractéristiques du trouble de l'odorat dans la MP seront donc détaillées dans une section subséquente (section 1.3) à la suite d'une introduction sur les systèmes chimiosensoriels (section 1.2).

1.1.6.2. Le trouble du comportement en sommeil paradoxal

Le TCSP, caractérisé par un manque d'atonie (paralysie) causant des mouvements agités et parfois agressifs pendant le sommeil paradoxal, est commun dans la MP affectant 30 à 65% des patients (Postuma, 2017). Bien que la sensibilité de ce symptôme soit plus faible, il est aussi intéressant d'étudier ce symptôme précoce en raison de son haut taux de conversion vers la MP ou d'autres maladies neurodégénératives, soit jusqu'à 80% sur une période de 10 ans (Iranzo *et al.*, 2014; Postuma *et al.*, 2019). Ce groupe de patients permet aussi d'identifier d'autres marqueurs potentiels de l'atteinte précoce de la MP puisque les risques de conversion vers la MP sont plus élevés, soit de 90% après 5 ans, lorsque d'autres symptômes non-moteurs sont

aussi considérés, incluant le trouble de l'odorat (Postuma *et al.*, 2019). À l'inverse du trouble de l'odorat, ces patients représentent toutefois un profil particulier qui est caractérisé par le développement une atteinte plus sévère de la MP, les découvertes chez ces patients ne sont donc pas nécessairement généralisables à tous les patients atteints de la MP (Postuma *et al.*, 2009).

Ces patients sont néanmoins considérés comme des candidats intéressants pour participer à des essais cliniques visant le développement de traitements pour des maladies neurodégénératives telles que la MP. (Postuma *et al.*, 2015b; Postuma, 2017).

1.1.6.3. Combinaisons de marqueurs non-moteurs dans des algorithmes de prédiction.

Aucun symptôme n'est un marqueur idéal de la MP et la combinaison de plusieurs symptômes non-moteurs qui sont observés dans la MP peut augmenter la sensibilité et spécificité de la prédiction de conversion d'un stade pré-symptomatique à un stade symptomatique de la MP. Dans le but d'harmoniser l'utilisation de tous ces marqueurs précoces, des modèles mathématiques combinant plusieurs symptômes, comme les critères de la phase prodromale de la MDS et l'algorithme PREDICT-PD, permettent de calculer un facteur de risque global de développement de la MP (Heinzel *et al.*, 2019; Marini *et al.*, 2020; Noyce *et al.*, 2017). La recherche sur la phase prodromale de la maladie évolue rapidement et le nombre de marqueurs a considérablement augmenté dans les dernières années. La recherche sur les symptômes non-moteurs précoces permettra de mieux caractériser ces marqueurs et de définir plus précisément leurs risques de conversion vers la MP, lorsqu'utilisés en combinaison, en vue d'un diagnostic plus fiable et plus tôt.

En somme, nous croyons que la caractérisation du trouble de l'odorat dans la MP, un symptôme précoce et sensible de la MP, pourra aider à mieux caractériser l'atteinte non-motrice de la MP. Dans l'éventualité de l'identification d'un profil olfactif spécifique dans la MP, il sera très intéressant dans le futur d'évaluer aussi la présence de ce profil chez ces patients en phase prodromale ou chez des individus à haut risque de développer la MP, tels que les patients avec un TCSP, pour éventuellement aider au dépistage précoce de la maladie.

1.2. Les systèmes chimiosensoriels

Les sens chimiques incluent l'odorat, le goût et le système trigéminal. Ils sont dits chimiques puisque leur perception est basée sur des stimuli chimiques, à l'opposition de sens basés sur des stimuli physiques comme la vue, le toucher et l'audition. Ce sont des sens qui sont moins étudiés et conséquemment moins bien connus. Ils sont typiquement sous-estimés, surtout lorsque comparés à la vision ou à l'ouïe, mais ils jouent un rôle important dans la vie de tous les jours que ce soit pour la perception de notre environnement, des saveurs des aliments, des signaux de danger ainsi que pour la communication sociale, etc.

Dans le cadre de cette thèse, nous nous intéresserons plus précisément dans cette section au système olfactif et au système trigéminal ainsi que l'interaction entre ces systèmes pour ensuite décrire différentes conditions affectant l'odorat ainsi qu'à la réponse trigéminal chez des patients avec un trouble de l'odorat.

1.2.1. Le système olfactif

1.2.1.1. Anatomie et traitement de l'information olfactive

La perception de l'odorat est possible par une interaction spécifique entre les odeurs, des stimuli chimiques volatiles présents dans l'air, et les récepteurs des neurones olfactifs de l'épithélium olfactif. L'olfaction orthonasale est la voie empruntée lorsque les molécules odorantes pénètrent par les cavités nasales pour atteindre l'épithélium olfactif. L'olfaction rétronasale, pour sa part, constitue la voie empruntée par les molécules chimiques de la bouche pour se diriger vers l'épithélium olfactif via le nasopharynx, permettant ainsi la perception des saveurs des aliments consommés.

L'épithélium olfactif est situé dans la partie supérieure de la cavité nasale, il est composé de 6 à 10 millions de neurones sensoriels olfactifs en plus de divers types cellulaires tels que les cellules sustentaculaires de soutien ainsi que les cellules basales (Moran *et al.*, 1982). Le système olfactif possède une caractéristique extrêmement intéressante qu'est sa capacité de régénérescence. En effet, la maturation des cellules basales souches de l'épithélium en de nouveaux neurones olfactifs est possible même à l'âge adulte. Le développement des axones de ces nouveaux neurones formés peut mener de nouvelles connexions fonctionnelles vers le bulbe

olfactif, permettant une plasticité considérable de l'épithélium et du bulbe olfactif (Brann et Firestein, 2014).

Pour initier le traitement de l'information olfactive, les odeurs atteignent l'épithélium olfactif où elles interagissent avec les récepteurs olfactifs, des protéines réceptrices qui sont concentrées à la surface des cils olfactifs des neurones (Chen *et al.*, 2014a). Environ 400 différents types de récepteurs fonctionnels ont été identifiés chez l'humain (Rouquier *et al.*, 2000), un seul type de récepteur est exprimé sur un neurone olfactif, mais chaque neurone olfactif peut être activé par plusieurs odeurs (Sicard et Holley, 1984). La perception olfactive pour une odeur reflète donc l'activation d'une combinaison de récepteurs, qui peuvent être activés par différentes molécules odorantes, pour former une réponse unique (Doty, 2012b; Johnson et Leon, 2007). Les axones des neurones olfactifs se réunissent pour former le nerf olfactif (nerf crânial 1), les faisceaux d'axones du nerf olfactif traversent, de la cavité nasale à l'encéphale, par la lame criblée de l'os ethmoïde et projettent sur le bulbe olfactif ipsilatéral.

Le premier relais est effectué à la hauteur du bulbe olfactif. Les axones des neurones olfactifs font synapse avec les cellules mitrales dans les glomérules. Les neurones olfactifs qui expriment un même récepteur olfactif projettent leurs axones vers un même glomérule, chaque glomérule formant ainsi une unité fonctionnelle. Différents odorants mènent donc à l'activation de différents glomérules, ce qui engendre une activation différente pour chaque odorant (Gottfried, 2010; Leboucq *et al.*, 2013). Le bulbe olfactif ne constitue pas un simple relais, l'information olfactive commence déjà à être traitée, il est ainsi comparé au cortex primaire d'autres systèmes sensoriels (Cleland et Linster, 2005; Haberly, 2001).

Du bulbe olfactif, les axones des cellules mitrales et tuftées cheminent ensuite au sein du tractus olfactif et projettent directement sur les structures du cortex olfactif primaire ipsilatérales. Le cortex olfactif primaire, situé à la jonction des lobes temporal et frontal, inclut le noyau olfactif antérieur, le tubercule olfactif, le cortex piriforme, le cortex entorhinal, le cortex périamygdaloïde et l'amygdale (Cleland et Linster, 2003; Cleland et Linster, 2019; Zatorre *et al.*, 1992). La structure recevant la majorité des projections est le cortex piriforme. De l'ensemble de ces structures, l'information est ensuite relayée principalement au cortex orbitofrontal, mais aussi à plusieurs autres structures du cortex olfactif secondaire, dont l'insula,

l'hippocampe, le thalamus, l'hypothalamus, le cortex périrhinal, le striatum ventral et le palladium (Gottfried, 2010; Lundstrom *et al.*, 2011).

Bien que le cortex olfactif soit plutôt diffus, les cortex piriforme et orbitofrontal sont considérés comme les régions centrales clés dans le traitement de stimuli olfactifs (Zatorre *et al.*, 1992). Il est généralement attribué que le cortex piriforme est responsable de la détection, la reconnaissance et la mémoire des odeurs (Gottfried *et al.*, 2004; Zelano *et al.*, 2007). Le cortex orbitofrontal, pour sa part, est impliqué dans l'intégration multisensorielle et permet les processus cognitifs de plus haut niveau dont la perception de la qualité des odeurs et la modulation dépendante de l'expérience (Gottfried et Zald, 2005; Rolls, 2004; Savic *et al.*, 2000; Zald et Pardo, 2000). Les régions de traitement de l'information olfactive sont en étroite connexion avec le système limbique dans des centres tels que l'amygdale, l'hippocampe, les cortex entorhinal et périrhinal, ce qui explique le lien entre l'olfaction ainsi que les émotions et la mémoire (Bessières *et al.*, 2017; Dolan et Vuilleumier, 2003; Gottfried *et al.*, 2004). De plus, les projections vers les centres olfactifs sont particulières dans le sens où l'odorat est un sens sans relais direct au thalamus, celui-ci étant impliqué dans l'attention sélective aux odeurs, ce qui fait en sorte que le traitement de l'information émotionnel des odeurs est réalisé avant le traitement de l'information cognitive des odeurs (Plailly *et al.*, 2008). Le rôle de chacune de ces structures dans le traitement de stimuli olfactifs n'est toujours pas clair et des études sont encore nécessaires pour définir leur implication (Lundstrom *et al.*, 2011).

1.2.1.2. Évaluation de l'odorat

L'évaluation objective de l'odorat à l'aide d'outils de mesure validés est importante, particulièrement considérant que l'auto-évaluation de l'odorat est peu fiable (Landis *et al.*, 2003). Ainsi, plusieurs outils ont été développés pour évaluer la fonction olfactive. Il existe des tests standardisés commercialisés pour l'évaluation dite comportementale de l'odorat, c'est-à-dire des tests dans lesquels les résultats sont basés sur la réponse du participant. Les deux outils validés les plus utilisés mondialement sont le Sniffin' Sticks test et l'UPSIT (University of Pennsylvania Smell Identification Test). Plusieurs versions de ces tests ont été développées et adaptées culturellement dans le monde (Doty *et al.*, 1996; Kondo *et al.*, 1998).

Le Sniffin' Sticks test est présenté sous forme d'un set de crayons feutres, chaque feutre étant imbibé d'une odeur, avec lesquels plusieurs tests peuvent être réalisés incluant un test de seuil de détection, de discrimination et d'identification d'odeurs (Haehner *et al.*, 2009c; Hummel *et al.*, 1997a; Oleszkiewicz *et al.*, 2019). Cet outil permet ainsi d'évaluer plusieurs aspects de la performance olfactive. Le test de seuil de détection évalue la sensibilité à une odeur (soit du n-butanol (odeur de solvant) ou du PEA (odeur de rose)) en mesurant la concentration la plus faible pouvant être détectée par le participant, celui-ci doit identifier le crayon contenant une odeur sur 3 crayons présentés dont deux ne contiennent aucune odeur. Le seuil est évalué par une procédure en escalier de 7 paliers dans laquelle la concentration est augmentée si l'odeur n'est pas identifiée ou diminuée si l'odeur est identifiée deux fois de suite. Le résultat au test se situe entre 1 (faible performance olfactive) et 16 (haute performance olfactive). Le test de discrimination évalue la capacité à discriminer l'odeur différente parmi trois crayons présentés dont deux contiennent la même odeur (résultat entre 0 et 16). Pour le test d'identification, le participant doit identifier l'odeur présentée en choisissant parmi quatre descripteurs, 16 odeurs sont présentées au total (résultat entre 0 et 16). Le résultat final est obtenu par l'addition des trois sous-tests (Seuil + Discrimination + Identification = SDI (en anglais TDI)), le résultat se situe entre 1 et 48. Ces tests ont été validés sur différentes populations et des valeurs standardisées permettent de déterminer si des participants sont normosmiques (résultat entre 30,5 et 48), c'est-à-dire s'ils ont un odorat normal, hyposmiques (résultat entre 15 et 30,5) donc s'ils présentent un odorat réduit ou bien anosmiques, c'est-à-dire s'ils ont un odorat absent (résultat entre 1 et 15) (Hummel *et al.*, 2007).

L'UPSIT pour sa part est un test d'identification d'odeur de 40 items, il se présente sous la forme d'un carnet dans lequel le participant peut gratter une région pour ainsi libérer les odeurs intégrées dans des microcapsules. Le participant doit ensuite identifier chacune des odeurs parmi une liste de 4 descripteurs, le résultat obtenu se situe donc entre 0 et 40 (Doty *et al.*, 1984b; Doty *et al.*, 1984c).

Il a été suggéré que le seuil de détection serait dépendant principalement du système olfactif périphérique, tandis que l'identification et la discrimination d'odeurs exigent un contrôle cognitif d'ordre supérieur et entraîneraient l'activation des structures olfactives centrales de plus haut niveau (Hedner *et al.*, 2010). Ainsi chaque sous-test contribue différemment à l'évaluation de l'odorat (Lotsch *et al.*, 2008). Néanmoins, d'autres auteurs argumentent que les trois tests

olfactifs mesurent le ou les mêmes substrats sous-jacents considérant qu'ils sont souvent corrélés ensemble (Doty *et al.*, 1994; Doty, 2012b).

En plus de ces tests comportementaux, d'autres outils, utilisant par exemple l'électrophysiologie (EEG) ou l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf), ont été développés. Ils ont l'avantage de fournir une indication de la performance olfactive tout en étant indépendants de la réponse des participants.

1.2.1.3. Corrélations neuroanatomiques dans le système olfactif

Afin de mieux comprendre à quel point ces tests olfactifs psychophysiques nous informent sur l'état et la fonction du cerveau, différentes études corrélationnelles ont été réalisées au sein de populations saines ou dans des conditions affectant la fonction olfactive.

Chez des personnes avec un odorat dans la normale, la performance olfactive a été associée d'abord au bulbe olfactif; plus la performance olfactive est élevée, plus le volume du bulbe olfactif sera grand (Buschhuter *et al.*, 2008; Seubert *et al.*, 2013). La performance aux tests olfactifs est aussi corrélée au volume et/ou l'épaisseur corticale du cortex olfactif dans des régions telles que le cortex piriforme, le cortex orbitofrontal, l'insula et le gyrus post-central droit (Frasnelli *et al.*, 2010a; Seubert *et al.*, 2013). La région du sillon olfactif, retrouvée sur la face antérieure du lobe frontal entre le gyrus droit et orbitofrontal médial et où y chemine le bulbe olfactif, est aussi corrélée avec la performance olfactive, plus le cortex sera épais, plus le sillon olfactif sera profond (Hummel *et al.*, 2003a). Lorsque les sous-tests sont considérés séparément, la performance au seuil de détection permet de prédire le volume du cortex orbitofrontal alors que la capacité à identifier des odeurs donne plus d'information sur le volume bulbe olfactif, du cortex entorhinal, piriforme et occipital, puis finalement le test de discrimination permet de prédire le volume du cortex orbitofrontal, de l'insula et des gyrus pré et post-central (Frasnelli *et al.*, 2010a; Seubert *et al.*, 2013).

Ces corrélations persistent avec les changements dans la performance olfactive qui entraînent des changements neuroanatomiques, ou inversement des changements neuroanatomiques qui entraînent des changements dans la performance olfactive, en réponse à la plasticité cérébrale.

1.2.2. Le système trigéminal

Le système trigéminal est responsable de la perception somatosensorielle de la peau et des muqueuses du visage via la stimulation du nerf trijumeau (nerf crânien 5). En réponse à des stimuli chimiosensoriels, il médie des sensations trigéminales telles que la fraîcheur, le piquant, la chaleur, le picotement, la brûlure, etc. de la muqueuse nasale, orale ainsi que des yeux.

Le système trigéminal intranasal joue un rôle important dans la protection des individus contre des agents chimiques toxiques et dangereux présents dans l'air en déclenchant des réponses et des réflexes protectifs des muqueuses. Il joue un rôle important dans la perception des stimuli olfactifs et trigéminaux, par son interaction avec le système olfactif, ainsi que dans la perception des aliments dégageant des sensations trigéminales (Al Aïn et Frasnelli, 2017). Néanmoins, notre compréhension du système trigéminal, des mécanismes sous-jacents à son activation et de son interaction avec le système olfactif est encore faible.

1.2.2.1. Stimuli mixtes, trigéminaux purs et olfactifs purs

La grande majorité des odeurs peuvent aussi stimuler le système trigéminal, en plus du système olfactif, à une intensité plus ou moins élevée selon la concentration. Ces odeurs sont donc appelées stimuli mixtes trigéminaux et olfactifs et peuvent activer le système trigéminal à plus faible ou forte intensité selon la nature du stimulus. Par exemple, l'odeur de la menthe procure une sensation de fraîcheur en réponse à l'activation du système trigéminal et une odeur de menthe en réponse à l'activation du système olfactif. Il n'existe que très peu de stimuli trigéminaux purs, c'est-à-dire des stimuli qui activent exclusivement le système trigéminal, comme le dioxyde de carbone (CO₂) ou la capsaïcine (Doty, 1975). Les stimuli olfactifs purs stimulant exclusivement le système olfactif sont aussi très rares, ils incluent le PEA, la vanilline et le sulfure d'hydrogène (H₂S) (Doty, 1975).

1.2.2.2. Anatomie et traitement de l'information trigéminal

Le nerf trijumeau est le nerf crânien le plus large, il se divise en trois branches principales pour l'innervation sensitive de tout le visage, soit ophtalmique, maxillaire et mandibulaire. Le nerf ethmoïde antérieur, une branche du nerf ophtalmique, et les branches nasales et alvéolaires du nerf maxillaire sont responsables de l'innervation de la muqueuse nasale. Les terminaisons

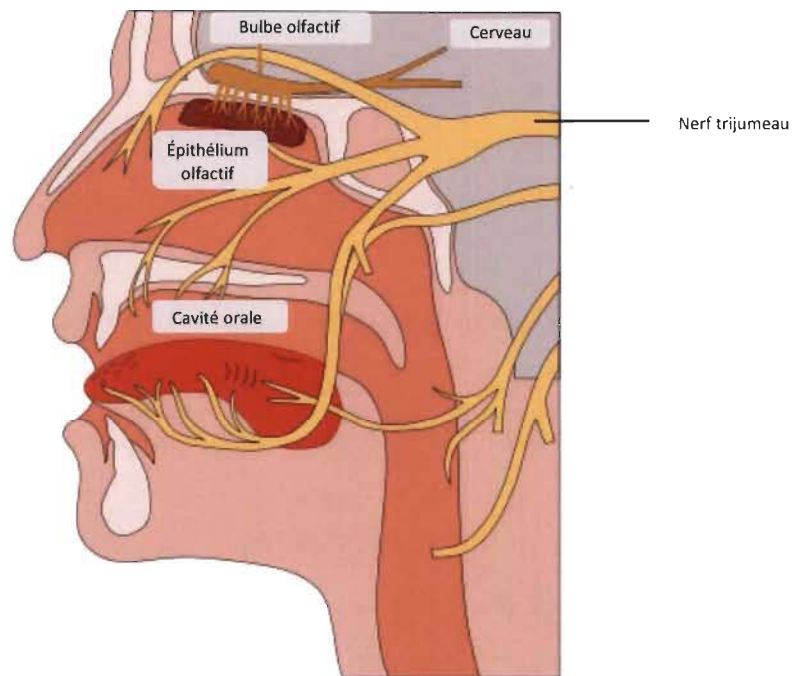
nerveuses du nerf trigéminal se retrouvent dans l'épithélium respiratoire et olfactif. L'activation du système trigéminal intranasal, est possible par l'interaction spécifique entre les stimuli chimiques volatiles et les chimiorécepteurs sur les terminaisons neuronales libres (Finger *et al.*, 1990). Les différents récepteurs trigéminaux (les principaux étant : TRPV1, TRPV3, TRPM8, TRPA1) répondent chacun à différentes températures et sont chacun activés par des stimuli chimiques spécifiques entraînant différentes sensations trigéminales (Friedland et Harteneck, 2017). Les stimuli trigéminaux activent les fibres nociceptives C non myélinisées qui médient des sensations douloureuses de brûlure ainsi que les fibres A δ myélinisées qui médient plutôt des sensations aiguës et de picotement (Hummel et Frasnelli, 2019; Mackenzie *et al.*, 1975). Voir figure 1.2 pour une illustration des branches du nerf trijumeau et sa proximité avec le système olfactif.

Les neurones trigéminaux sont des neurones pseudo-unipolaires, leurs corps cellulaires sont localisés dans le ganglion trigéminal (ganglion de Gasser) dans la cave trigéminal (de Meckel) à la réunion des 3 branches du nerf trijumeau. Les fibres afférentes vont pénétrer dans le tronc cérébral, à la hauteur du pont, et le premier relais est localisé au niveau du noyau spinal trigéminal dans le tronc cérébral. L'information est ensuite relayée aux neurones projetant au thalamus dans le noyau ventro-postéro-médial. Il est intéressant de noter que l'information chimiosensorielle semble être traitée principalement, mais pas exclusivement, ipsilatéralement de façon semblable à l'information olfactive, ce qui est différent de l'information cutanée du nerf trijumeau qui est traitée controlatéralement (Doty *et al.*, 1997a; Iannilli *et al.*, 2008).

Du thalamus, l'information se dirige ensuite au cortex somatosensoriel primaire dans l'opercule pariétal du gyrus post-central. Les stimuli chimiosensoriels mènent aussi à l'activation du cortex somatosensoriel secondaire, du cortex cingulaire, de l'insula, du cortex orbitofrontal, du cortex piriforme, et autres (Albrecht *et al.*, 2010). Les stimuli trigéminaux peuvent aussi entraîner l'activation de la matrice de la douleur, expliquant ainsi que des stimuli trigéminaux peuvent entraîner des sensations douloureuses selon la nature du stimulus. En effet, le thalamus projette aussi au cortex préfrontal, à l'insula, au cortex cingulaire, au tronc cérébral et à d'autres régions du système limbique, des régions qui forment avec les cortex somatosensoriels, la matrice de la douleur (Mouraux *et al.*, 2011). De façon intéressante, l'activation cérébrale en réponse à un stimulus trigéminal pur inclut aussi des structures

typiquement olfactives, activées par des stimuli olfactifs purs, incluant le cortex piriforme, le cortex orbitofrontal médial et l'insula (Albrecht *et al.*, 2010). Lors d'une stimulation birhinale, une activation prédominante de l'hémisphère droit est observée, comme c'est le cas dans le système olfactif, mais pas pour le système somatosensoriel trigéminal (Hari *et al.*, 1997; Hummel *et al.*, 1997b).

Figure 1-2. Schéma illustrant les différentes branches du nerf trijumeau et sa proximité avec le système olfactif



1.2.2.3. Évaluation du système trigéminal

Le système trigéminal est moins sensible que le système olfactif, une concentration plus faible d'un odorant sera nécessaire pour stimuler le système olfactif, en conséquence, un individu détectera l'odeur avant de percevoir une sensation trigéminal. Il est ainsi difficile d'étudier uniquement la fonction trigéminal.

Pour y remédier, le test comportemental le plus utilisé pour évaluer la fonction trigéminal est le test de latéralisation trigéminal. Dans cette tâche le participant doit identifier la narine (droite ou gauche) qui est stimulée par un stimulus trigéminal. Cette tâche est basée sur le fait que l'humain est incapable de localiser, c'est-à-dire d'identifier la narine stimulée,

une odeur pure qui ne stimule pas le système trigéminal. Il pourra toutefois seulement localiser une odeur si celle-ci stimule aussi le système trigéminal (Croy *et al.*, 2014b; Frasnelli *et al.*, 2009; Kobal *et al.*, 1989). Le test de latéralisation trigéminal n'est pas commercialisé, bien que certaines tentatives aient été réalisées (Hummel *et al.*, 2016; Naka *et al.*, 2014), il présente donc quelques variantes selon les différentes études. Il a toutefois été extensivement utilisé et validé sur différentes populations par différents laboratoires dans ce domaine de recherche. Typiquement, un stimulus mixte à forte valence trigéminal est présenté dans une narine alors qu'un solvant inodore est présenté dans l'autre narine, le participant doit ensuite identifier la narine stimulée, 40 répétitions pseudo-randomisées contrebalancées sont typiquement réalisées. Le résultat est obtenu en additionnant le nombre de bonnes identifications. Pour éviter l'habituation à l'odeur, une pause d'environ 40 secondes doit être respectée entre chaque stimulation, ce qui rend la passation du test plutôt longue, d'un peu plus de 30 minutes (Hummel et Kobal, 1999).

Différentes études tentent de développer des tests trigéminaux pour utiliser en contexte clinique en tentant de réduire le temps total du test tout en fournissant des résultats aussi fiables. Des stratégies comme diminuer le nombre de stimulations ou utiliser des durées de présentation de stimulus variables afin de mesurer aussi le seuil de détection trigéminal sont explorées (Huart *et al.*, 2019a; Jobin *et al.*, 2020). Les résultats de cet article, (Jobin *et al.* 2020), sont présentés en Annexe 1. Toutefois, du travail est encore nécessaire pour fournir des outils fiables, rapides et abordables pour évaluer la fonction trigéminal en recherche et en contexte clinique.

D'autres approches permettant une évaluation objective de la fonction trigéminal telles que des mesures de l'activité cérébrale lors de la présentation de stimuli trigéminaux qui peuvent être enregistrées par IRMf. De plus, l'utilisation de l'EEG permet de dissocier la réponse de la muqueuse nasale, par la mesure du potentiel mucosal négatif, de la réponse centrale qui peut être mesurée par les potentiels évoqués centraux.

1.2.3. L'interaction entre le système olfactif et le système trigéminal

Les systèmes olfactif et trigéminal, bien que régulés par 2 nerfs indépendants, sont étroitement liés ensemble. Le système trigéminal peut influencer le système olfactif et le

système olfactif peut aussi influencer le système trigéminal. L'information d'un des deux systèmes peut à la fois supprimer ou amplifier la réponse de l'autre système. L'interaction est complexe et peu prévisible, elle peut dépendre de divers facteurs tels que le stimulus, l'intensité de la stimulation et l'intensité relative de la composante trigéminal et olfactive. L'origine et le degré de cette interaction ne se sont toujours pas clairs, mais diverses hypothèses suggèrent la présence d'interactions impliquant divers mécanismes au niveau du stimulus, de l'épithélium olfactif et du SNC.

1.2.3.1. Interactions liées au stimulus

Comme mentionné plus tôt, la grande majorité des odeurs stimulent aussi le système trigéminal et donc les mêmes molécules chimiques peuvent stimuler les récepteurs olfactifs et trigéminaux. À concentration élevée, la sensation trigéminal peut entraîner une suppression de la composante olfactive d'un stimulus. Par exemple, lorsque le stimulus trigéminal pur de CO₂ est présenté avec l'odeur pure de H₂S, la perception évoquée par le CO₂ supprime l'odeur de H₂S qui est donc perçue comme moins intense que lorsque présentée seule (Cain et Murphy, 1980; Hummel et Livermore, 2002). À son tour, le système olfactif peut entraîner une augmentation de la sensation trigéminal, ainsi un stimulus trigéminal pur peut être perçu comme plus intense lorsque présenté simultanément avec une odeur pure (Kobal et Hummel, 1988; Livermore *et al.*, 1992). En effet, la sensation trigéminal du CO₂ sera perçue comme plus intense lorsque combinée avec une odeur pure comme le H₂S ou la vanilline (Livermore *et al.*, 1992). Ces interactions sont encore plus complexes et plus difficiles à prédire dans le cas de stimulus mixtes olfactifs et trigéminaux ou de mélanges d'odeurs. Par exemple, l'intensité du stimulus mixte de carvone est amplifiée lorsqu'il est combiné à un stimulus olfactif pur ou trigéminal pur alors que l'intensité de ces derniers est supprimée (Livermore *et al.*, 1992). Les stimuli mixtes semblent donc dominer sur les stimuli olfactifs et trigéminaux purs (Al Aïn et Frasnelli, 2017; Hummel et Livermore, 2002).

1.2.3.1. Interactions périphériques

Une interaction périphérique, au niveau de l'épithélium olfactif, peut aussi avoir lieu entre les 2 systèmes. Le nerf trigéminal innerve l'épithélium olfactif et il peut ainsi influencer le traitement de l'information olfactive (Finger *et al.*, 1990; Kratskin *et al.*, 2000). Il a été

suggéré que ces fibres trigéminales peuvent altérer la réponse des récepteurs olfactifs par le relâchement de substance P et possiblement d'autres peptides (Bouvet *et al.*, 1988; Bouvet *et al.*, 1987; Daiber *et al.*, 2013). Plus spécifiquement, le peptide relié au gène calcitonine (PRGC), qui est relâché par les fibres trigéminales lors d'une stimulation, pourrait inhiber l'activité des récepteurs olfactifs (Daiber *et al.*, 2013). En effet, une étude ayant enregistré l'activité EEG de la muqueuse nasale chez le rat a démontré que la stimulation trigéminal et olfactive simultanée atténue la réponse olfactive en altérant le signal olfactif de l'électro-olfactogramme (Daiber *et al.*, 2013).

Il a aussi été suggéré que le système trigéminal peut moduler l'activité du bulbe olfactif. Des évidences neuroanatomiques démontrent que des neurones trigéminaux du ganglion trigéminal possèdent des branches qui retournent dans le SNC pour innover le bulbe olfactif (Finger *et al.*, 2003; Schaefer *et al.*, 2002). De façon similaire, l'innervation trigéminal peut moduler la réponse olfactive par le relâchement de PRGC via un réflexe axonal (Genovese *et al.*, 2016). Cependant cette communication a été retrouvée chez l'animal et aucune évidence n'a été rapportée chez l'humain.

Le système trigéminal peut aussi affecter la réponse olfactive par des interactions indirectes via l'activation de réflexes nasaux, en changeant la perméabilité nasale, la respiration ou bien en modifiant la consistance du mucus recouvrant l'épithélium par stimulation glandulaire (Finger *et al.*, 1990).

Inversement, il y a très peu d'information sur comment le système olfactif peut influencer le système trigéminal. Toutefois, ces connexions structurelles constituent une voie de communication où l'information peut se transférer potentiellement dans les deux directions. Ainsi, les fibres sensorielles de l'épithélium olfactif ou du bulbe olfactif pourraient rapporter leur activité au système trigéminal. Le ganglion trigéminal pourrait aussi recevoir de l'information de l'épithélium olfactif et du bulbe olfactif par transport rétrograde en réponse au réflexe axonal, modulant ainsi la réponse trigéminal (Genovese *et al.*, 2016).

1.2.3.2. Interactions centrales

Malgré le fait que l'activation des deux systèmes indépendamment est significativement différente, ils partagent tout de même des structures neuroanatomiques au niveau du SNC et leur stimulation conduit à une activation de zones du cerveau qui se chevauchent largement. En effet,

les stimuli trigéminaux peuvent aussi activer des régions typiquement olfactives telles que le cortex piriforme, orbitofrontal antérieur, l'insula rostrale et le gyrus temporal supérieur (Boyle *et al.*, 2007b; Hummel *et al.*, 2005). Une étude a aussi rapporté une activation de l'amygdale et de l'hypothalamus (Savic *et al.*, 2000). Inversement, l'odeur de nicotine active aussi des régions trigéminales, en plus de régions olfactives, malgré une faible concentration juste au-dessus du seuil de perception (Albrecht *et al.*, 2009). En outre, la stimulation simultanée avec un stimulus trigéminal pur, le CO₂, et une odeur pure, le PEA, mène à une activation corticale qui est largement supérieure à l'addition des zones corticales activées séparément par les stimuli trigéminal et olfactif (Boyle *et al.*, 2007a). Cette activation étant retrouvée dans des centres responsables de l'intégration multisensorielle soit le sulcus intra-pariétal, le gyrus supérieur temporal et le cortex orbitofrontal.

1.2.4. Les altérations de l'odorat

Les troubles de l'odorat sont fréquents et peuvent affecter jusqu'à 20% de la population générale (Landis *et al.*, 2004; Mullol *et al.*, 2012). La perte totale de l'odorat, l'anosmie, peut affecter 5 à 6% et la réduction de l'odorat, l'hyposmie, 13 à 16% de la population (Bramerson *et al.*, 2004; Landis *et al.*, 2004). Chez les personnes plus âgées que 53 ans, ce taux augmente à 25% (Murphy *et al.*, 2002). D'autres troubles qualitatifs peuvent aussi se manifester, tels que la parosmie, soit la perception déformée des odeurs, et la phantosmie, soit la perception d'odeurs sans aucune source d'odeurs. Les troubles de l'odorat peuvent affecter considérablement la qualité de vie des patients qui peuvent présenter une diminution du plaisir de manger, des changements de poids, une augmentation de l'exposition au danger relié à un feu ou à de la nourriture avariée, une inquiétude face à leur odeur corporelle, de l'isolement, des troubles de comportement affectif ou des troubles de la sexualité (Croy *et al.*, 2014a; Frasnelli et Hummel, 2005).

Les causes communes d'un odorat absent ou réduit incluent des troubles sinu-nasaux tels que la rhinosinusite chronique, des troubles liés à une infection des voies respiratoires supérieures et un traumatisme crânien cérébral. Néanmoins, d'autres causes sont connues telles que l'anosmie congénitale, l'exposition à des substances toxiques ou une chirurgie nasale (Berendse et Ponsen, 2006; Mackay-Sim *et al.*, 2006; Temmel *et al.*, 2002). En outre, différentes

conditions peuvent être associées à un trouble de l'odorat comme des maladies neurodégénératives telles que les maladies d'Alzheimer et la MP, des conditions psychiatriques telles que la schizophrénie, mais aussi la dépression, l'épilepsie, les migraines, ou un accident vasculaire cérébral (Atanasova *et al.*, 2008; Desai *et al.*, 2015; Hummel *et al.*, 2017; Wehling *et al.*, 2015). Enfin, lorsqu'il n'y a aucune cause évidente, le trouble de l'odorat est qualifié d'idiopathique (Hummel *et al.*, 2017).

1.2.4.1. Le trouble de l'odorat sinu-nasal

La perte olfactive liée à un trouble sinu-nasal est une des principales causes de trouble de l'odorat. Il est causé par des rhinosinusites aiguës ou chroniques, qui peuvent se présenter avec ou sans polypes, une rhinite allergique ou non, qui mènent à une inflammation de la muqueuse nasale et des sinus paranasaux (Rombaux *et al.*, 2016). De 60 à 80% des patients avec une rhinosinusite chronique présentent un trouble de l'odorat, ce taux augmente à 90% si les patients présentent aussi des polypes (Litvack *et al.*, 2008). Le trouble apparaît typiquement graduellement et a tendance à fluctuer à travers le temps en fonction de la sévérité de la maladie et du degré d'inflammation. Une amélioration de l'olfaction ou un retour à la normale est souvent observé, bien qu'il soit fréquent que le trouble persiste même à la suite d'une opération. La cause du trouble de l'odorat n'est pas complètement claire, mais elle a été associée à un problème obstructif lié à l'œdème, aux polypes et à l'inflammation. Puisque les déficits olfactifs sont aussi présents même lorsque le passage n'est pas obstrué, il est néanmoins généralement accepté que le trouble de l'odorat est plutôt lié à un processus inflammatoire qui empêcherait les odeurs de se rendre et interagir avec les récepteurs olfactifs (Rombaux *et al.*, 2016). Plus spécifiquement, l'inflammation de la muqueuse olfactive mènerait à des altérations des neurones récepteurs via le relâchement de médiateurs inflammatoires empêchant ainsi l'interaction des neurones avec les odeurs.

En plus des déficits fonctionnels de l'épithélium, une réduction du volume du bulbe olfactif a aussi été rapportée, cette réduction étant probablement liée à une diminution de sa stimulation (Doty et Mishra, 2001; Hummel *et al.*, 2017; Lane *et al.*, 2010). Le volume du bulbe olfactif est corrélé avec la fonction olfactive, le degré de l'atteinte sinu-nasale et le degré de l'inflammation, un plus petit bulbe olfactif étant lié à un plus grand degré d'inflammation

(Hummel *et al.*, 2015; Rombaux *et al.*, 2008b). Une autre étude n'a cependant pas rapporté de réduction du bulbe olfactif (Han *et al.*, 2017). Chez les patients anosmiques des altérations centrales dans le système olfactif ont aussi été rapportées, soit une réduction du volume de la matière grise du gyrus droit, du cortex orbitofrontal et de l'insula (Han *et al.*, 2017). À la suite d'un traitement chirurgical des patients, une amélioration de la fonction olfactive est observée ainsi qu'une augmentation du volume du bulbe olfactif (Gudziol *et al.*, 2009), du volume de centres olfactifs tels que le cortex piriforme, l'amygdale, le cortex orbitofrontal, l'hippocampe et le noyau caudé (Whitcroft *et al.*, 2018) ainsi qu'une amélioration de la connectivité de la matière blanche du cortex cingulaire antérieur et de l'amygdale (Güllmar *et al.*, 2017).

1.2.4.2. Le trouble de l'odorat post-infectieux

Le trouble de l'odorat post-infectieux est très fréquent, il est la principale cause de consultation pour un trouble de l'odorat (Temmel *et al.*, 2002). Il est généralement causé à la suite de l'infection des voies respiratoires supérieures par différents pathogènes (virus, bactéries, champignons ou autres organismes), les virus étant les plus fréquents c'est pourquoi le terme post-viral est souvent utilisé. Plus de 200 virus peuvent entraîner une infection des voies respiratoires, mais quatre familles soit les rhinovirus, l'influenza, les coronavirus et les parainfluenzas en sont principalement la cause (Mäkelä *et al.*, 1998). La majorité des patients décrivent une infection sévère (Hummel *et al.*, 2017). Le trouble apparaît donc soudainement et persiste plusieurs mois à la fin des symptômes grippaux (Cavazzana *et al.*, 2018; Welge-Lüssen et Wolfensberger, 2006). Il peut être permanent, mais la récupération spontanée est observée chez plus du tiers des patients atteints sur une période de trois ans (Hummel *et al.*, 2017; Reden *et al.*, 2006; Rombaux *et al.*, 2012). La probabilité de rémission étant réduite en fonction de la durée et la sévérité du trouble de l'odorat ainsi que des dommages à l'épithélium (Yamagishi *et al.*, 1994). Les mécanismes menant au trouble de l'odorat post-viral, bien que pas totalement clairs, seraient principalement associés à des dommages de l'épithélium olfactif causés par la réponse immunitaire enclenchée face au pathogène. L'épithélium olfactif est ainsi fortement atteint et partiellement remplacé par un épithélium respiratoire. Des zones de cicatrisation apparaissent et causent une réduction des neurones olfactifs et par conséquent une réduction des récepteurs olfactifs (Seiden, 2004). Des altérations des récepteurs, soit une atteinte des dendrites qui n'atteignent plus la surface épithéliale ou une réduction des cils à la surface des récepteurs

empêchant ainsi la transduction des odeurs, ont aussi été observés chez des patients anosmiques (Jafek *et al.*, 1990; Seiden, 2004; Yamagishi *et al.*, 1994). Le degré des dommages épithéliaux étant corrélés avec la performance olfactive (Jafek *et al.*, 1990).

Des dommages du SNC sont aussi observés en lien avec une diminution de l'information olfactive périphérique vers le SNC ou peut-être même une transmission du virus via le nerf olfactif jusqu'au SNC (Doty, 2003; Doty, 2015; Seiden, 2004). Une réduction du bulbe olfactif et de la profondeur du sulcus olfactif est observée, le volume du bulbe olfactif étant corrélé avec la fonction olfactive et la durée du trouble de l'odorat (Hummel *et al.*, 2015; Mueller *et al.*, 2005b; Yao *et al.*, 2018a). Une réduction du volume du cortex orbitofrontal droit, de l'hippocampe et du thalamus a aussi été rapportée (Yao *et al.*, 2018a). Ces altérations pouvant potentiellement se rétablir à la suite d'un entraînement olfactif (Gellrich *et al.*, 2018).

Lors d'une stimulation olfactive ou d'une tâche de reniflement sans la présence d'une odeur, une tâche qui permet d'entraîner l'activation de régions olfactives, l'étendue spatiale de l'activation des réseaux olfactifs n'est pas différente des participants contrôles (Kolindorfer *et al.*, 2015a). Toutefois, chez ces mêmes patients, l'analyse de la connectivité fonctionnelle du réseau olfactif lors d'une stimulation chimiosensorielle a démontré une absence des connexions fonctionnelles chez les anosmiques pour le réseau olfactif (9 connexions chez les contrôles comparativement à 0 chez les anosmiques) (Kolindorfer *et al.*, 2015a). Le nombre de connexions fonctionnelles étant aussi significativement réduit chez ces patients pendant la réalisation d'une tâche de reniflement (Kolindorfer *et al.*, 2015b). Au repos, c'est-à-dire sans stimulation ou tâche particulière, aucun changement de la connectivité fonctionnelle n'a été observé (Kolindorfer *et al.*, 2015b).

1.2.4.3. Le trouble de l'odorat post-traumatique

Le trouble de l'odorat post-traumatique est entraîné par un traumatisme crânien cérébral (TCC) léger ou sévère à la suite d'un coup porté à la tête ou d'une chute. Le TCC constitue une des causes les plus fréquentes de trouble de l'odorat affectant 13 à 65% des patients avec un TCC (Temmel *et al.*, 2002). La perte de l'odorat se traduit en une anosmie ou une hyposmie, mais la parosmie est aussi très fréquente (Doty *et al.*, 1997b). Le TCC peut induire des dommages variables pouvant affecter plusieurs aspects de la transmission olfactive selon la

sévérité du traumatisme ou la zone du cerveau affectée. Des blessures nasales peuvent entraîner une obstruction ou un dommage à l'épithélium. Lors d'un choc, le contrecoup entraîne un mouvement du cerveau, celui-ci n'étant pas totalement fixe dans la boîte crânienne, ce qui peut provoquer une déchirure des fines fibres du nerf olfactif qui sont fixes lors de leur passage à travers la lame criblée de l'os ethmoïde pour se rendre au bulbe olfactif. De plus, des dommages centraux, reliés au traumatisme ou en conséquence à une hémorragie, peuvent affecter le système olfactif (Coelho et Costanzo, 2016; Costanzo et Miwa, 2006). Le trouble olfactif apparaît rapidement après le choc, mais peut aussi être retardé, il peut persister longtemps et souvent être permanent ou même s'aggraver (Frasnelli *et al.*, 2016; Hummel *et al.*, 2017; Reden *et al.*, 2006). Le rétablissement est aussi possible, environ le tiers des patients retrouveront, complètement ou partiellement, leur fonction olfactive (Coelho et Costanzo, 2016; Doty *et al.*, 1997b; Reden *et al.*, 2006; Welge-Lüssen *et al.*, 2012). Si la lésion n'est pas trop sévère, les axones des nouveaux neurones olfactifs formés peuvent se rendre au bulbe olfactif et établir de nouvelles connexions fonctionnelles si ceux-ci ne sont pas bloqués par du tissu cicatriciel (Costanzo et Miwa, 2006). L'entraînement olfactif peut aussi aider à la récupération partielle de la fonction olfactive et permettre une augmentation de l'activation lors de la stimulation olfactive (Pellegrino *et al.*, 2019).

Une réduction du volume du bulbe olfactif est aussi observée (Han *et al.*, 2018b; Hummel *et al.*, 2015; Mueller *et al.*, 2005b; Yousem *et al.*, 1996b; Yousem *et al.*, 1999), son volume étant corrélé avec la fonction olfactive (Haehner *et al.*, 2008; Mueller *et al.*, 2005b; Rombaux *et al.*, 2006b; Rombaux *et al.*, 2012; Yousem *et al.*, 1999). Le tractus olfactif, les lobes frontal et temporal, plus particulièrement le gyrus droit et le gyrus orbital sont aussi affectés (Liu *et al.*, 2008; Yousem *et al.*, 1996b; Yousem *et al.*, 1999). Des altérations de la matière grise, largement dépendantes de la sévérité du TCC, sont fortement répandues dans le cortex olfactif primaire et secondaire (Han *et al.*, 2018b). De plus, les potentiels évoqués olfactifs sont absents ou altérés (Liu *et al.*, 2008) et une réduction de l'activité en réponse à une odeur est observée dans le cortex olfactif primaire et l'insula (Han *et al.*, 2018a).

1.2.4.4. L'anosmie congénitale

L'anosmie congénitale, lorsqu'une personne naît sans le sens de l'odorat, est une condition très rare soit de 1 à 3% des troubles de l'odorat (Temmel *et al.*, 2002). L'anosmie, l'absence complète de la perception de l'odorat, est associée à l'aplasie ou l'hypoplasie du bulbe olfactif (Yousem *et al.*, 1996a). La profondeur du sulcus olfactif est réduite, avec un épaissement cortical dans la région adjacente au sillon, l'épaisseur corticale de ces régions étant négativement corrélée avec la performance olfactive (Abolmaali *et al.*, 2002; Frasnelli *et al.*, 2013; Ottaviano *et al.*, 2015; Yousem *et al.*, 1996a). De plus, des augmentations de la densité et du volume de la matière grise dans le cortex orbitofrontal, piriforme, entorhinal, le gyrus frontal moyen et le sulcus frontal supérieur ont été rapportées (Frasnelli *et al.*, 2013; Karstensen *et al.*, 2018). En outre, la stimulation avec une odeur peut entraîner une activation cérébrale, bien qu'elle soit significativement réduite comparativement aux contrôles et aux patients avec une hyposmie acquise (Henkin et Levy, 2002). En contraste avec les formes d'anosmie acquises, c'est la seule condition où la perte de l'odorat est plutôt associée à des augmentations de volume des aires olfactives.

1.2.4.5. La réduction de l'odorat liée à l'âge

Il est bien reconnu que la fonction olfactive diminue avec l'âge, une réduction d'environ 3.2 points sur le score total au test UPSIT est observée à chaque tranche de 10 ans (Mckinnon *et al.*, 2010; Sorokowska *et al.*, 2015). Plus de 50% des personnes présentent une réduction de l'odorat entre 65 et 80 ans et plus de 75% après 80 ans (Doty *et al.*, 1984a). Des valeurs normatives en fonction de l'âge sont disponibles pour l'évaluation de l'odorat (Hummel *et al.*, 2007; Oleszkiewicz *et al.*, 2019). Des dommages cumulatifs de l'épithélium olfactif par des insultes environnementales ainsi qu'une réduction de la capacité de régénérescence de l'épithélium olfactif mènent à une altération des récepteurs, une réduction du nombre de récepteurs, un amincissement de l'épithélium et un remplacement partiel de l'épithélium olfactif par un épithélium respiratoire (Attems *et al.*, 2015). Une réduction du volume du bulbe olfactif, de l'amygdale, du cortex entorhinal, de l'hippocampe, du gyrus post-central et du cortex piriforme ainsi que des altérations de la matière blanche dans les lobes frontaux et temporaux sont corrélées avec la diminution de la fonction olfactive (Attems *et al.*, 2015; Buschhuter *et al.*,

2008; Segura *et al.*, 2013). Une réduction de l'activité dans le cortex olfactif lors d'une stimulation olfactive est aussi observée avec l'âge (Doty et Kamath, 2014; Wang *et al.*, 2005).

Ainsi, lors de l'évaluation de l'odorat dans des populations plus âgées, comme dans le cas de maladies neurodégénératives, il est extrêmement important de comparer les patients avec des contrôles matchés pour l'âge. De plus, le trouble de l'odorat plus sévère lié à l'âge pourrait aussi refléter une dégénérescence préclinique, il est donc important de suivre de près ces personnes.

1.2.4.6. Le trouble de l'odorat lié à une maladie neurodégénérative

Le trouble de l'odorat a été relié à plusieurs maladies neurodégénératives, principalement la MP et la maladie d'Alzheimer, mais aussi d'autres troubles neurodégénératifs tels que la démence frontotemporale, la démence à corps de Lewy, la démence vasculaire, la maladie d'Huntington, la sclérose latérale amyotrophique, le syndrome de Down, d'autres formes atypiques de parkinsonisme, les maladies à Prion, etc. (Doty et Hawkes, 2019). L'altération du système olfactif est une composante centrale dans la pathogenèse associée à ces maladies neurodégénératives. Le système olfactif pouvant même servir de point d'entrée de différents pathogènes ou agents toxiques. Le trouble de l'odorat apparaît dans un stade pré clinique et il est très fréquent dans ces conditions, faisant même partie des critères diagnostiques (Foster *et al.*, 2008; Postuma *et al.*, 2015a). La cause du trouble de l'odorat dans ces maladies n'étant toujours pas claire, son étude est de haute importance. Dans le cadre de cette thèse, nous allons nous intéresser plus particulièrement au trouble de l'odorat associé à la MP dont nous discuterons en détail à la section 1.3.

1.2.4.7. Le trouble de l'odorat idiopathique

Un trouble de l'odorat ne présentant pas d'étiologie claire à la suite d'une évaluation exhaustive sera classifié de trouble de l'odorat idiopathique (Hummel *et al.*, 2017). Ce qui est le cas d'environ 16% des patients se présentant avec un trouble de l'odorat (Fonteyn *et al.*, 2014). Un trouble de l'odorat idiopathique peut simplement être un trouble mal classifié, néanmoins, ces patients doivent être considérés avec soin puisqu'il pourrait aussi s'agir d'un signe de neurodégénérescence précoce (Haehner *et al.*, 2019).

Selon une étude le volume du bulbe olfactif est réduit chez ces patients sans aucun changement du sulcus olfactif (Liu *et al.*, 2018), bien qu'une étude pilote n'ait rapporté aucune différence (Mueller *et al.*, 2005a). Des réductions du volume de la matière grise dans des régions du cortex olfactif telles que le cortex orbitofrontal, cingulaire antérieur, insulaire, parahippocampal et piriforme (Yao *et al.*, 2014) ainsi que des altérations de la matière blanche adjacente à ces cortex, ont été rapportées (Yao *et al.*, 2018b). Une altération des potentiels évoqués olfactifs a aussi été rapportée (Liu *et al.*, 2018).

Ces résultats doivent toutefois être interprétés avec attention considérant que la cause du trouble de l'odorat n'est pas connue et ce groupe pourrait inclure différentes étiologies. L'étude de ce groupe particulier est toutefois importante, pour mieux comprendre les altérations de ces personnes potentiellement à plus haut risque de développer des maladies neurodégénératives.

1.2.5. Altération de la fonction trigéminal dans les troubles de l'odorat

En conséquence à l'étroite connexion entre le système olfactif et trigéminal, une réduction de la fonction olfactive entraîne typiquement une réduction de la sensibilité trigéminal. Une atteinte de la fonction trigéminal est donc observée chez des patients anosmiques et hyposmiques avec différentes étiologies, dont le trouble de l'odorat post-viral, sinu-nasal, post-traumatique et idiopathique, comparativement à des contrôles.

1.2.5.1. Altérations sur le plan comportemental

Les patients anosmiques sont souvent sollicités pour l'étude du système trigéminal puisqu'ils permettent un modèle d'étude sans l'interaction avec le système olfactif. Ils sont tout de même capables de détecter une large gamme de stimuli et de sensations trigéminales (Kobal et Hummel, 1988; Laska *et al.*, 1997). Ils évaluent toutefois l'intensité des stimuli trigéminaux comme étant plus faible (Laska *et al.*, 1997) et ont un seuil de détection trigéminal plus élevé (Doty, 1975; Gudziol *et al.*, 2001). Que ce soit chez des patients anosmiques ou hyposmiques, l'altération de l'odorat est associée à une altération du système trigéminal (Frasnelli et Hummel, 2007; Hummel et Frasnelli, 2019). Ces patients présentent des résultats plus bas au test de latéralisation trigéminal (Hummel *et al.*, 2003b; Kobal *et al.*, 1989; Migneault-Bouchard *et al.*,

2019), un seuil de perception trigéminal augmenté (Frasnelli *et al.*, 2006; Frasnelli *et al.*, 2010b; Ren *et al.*, 2012) et un délai de perception trigéminal augmenté (Oleszkiewicz *et al.*, 2017), comparativement à des contrôles. Ces altérations trigéminales sont souvent corrélées à la sévérité du trouble de l'odorat (Frasnelli *et al.*, 2006; Migneault-Bouchard *et al.*, 2019; Rombaux *et al.*, 2008a). Cette réduction semble spécifique au système trigéminal chimiosensoriel puisqu'aucune altération du seuil trigéminal somatosensoriel n'a été rapportée (Frasnelli *et al.*, 2006).

1.2.5.2. Altérations électrophysiologiques périphérique et centrale

Lorsque l'activité cérébrale est étudiée par EEG, les potentiels évoqués trigéminaux peuvent être absents ou altérés (Frasnelli *et al.*, 2007a; Huart *et al.*, 2012; Hummel *et al.*, 1996a; Kobal et Hummel, 1988; Rombaux *et al.*, 2008a). Plus spécifiquement, une augmentation de la latence et une réduction de l'amplitude des composantes des potentiels évoqués trigéminaux sont observées, démontrant une diminution de la sensibilité trigéminal centrale (Frasnelli *et al.*, 2007a; Rombaux *et al.*, 2008a). De façon intéressante, lorsque l'EEG de la muqueuse nasale est enregistrée en réponse à un stimulus trigéminal, une amplitude de réponse augmentée est observée (Frasnelli *et al.*, 2007a). Ce résultat est plutôt surprenant considérant la réduction centrale et comportementale de la sensibilité trigéminal. Cette augmentation de sensibilité périphérique serait expliquée comme un mécanisme d'adaptation pour compenser à la sensibilité trigéminal réduite centralement. Ce modèle d'adaptation/compensation prend en considération que la réponse trigéminal est amplifiée centralement et inhibée en périphérie par le système olfactif lorsqu'il est complètement fonctionnel (Boyle *et al.*, 2007a). En conséquence à l'atteinte du système olfactif, l'amplification trigéminal centrale manquante mènerait à une réponse centrale réduite, puis une désinhibition de la réponse périphérique à une augmentation de la sensibilité périphérique (Frasnelli et Hummel, 2007; Frasnelli *et al.*, 2007a).

1.2.5.3. Altérations centrales fonctionnelles

Lorsque l'activité cérébrale en réponse à un stimulus trigéminal est étudiée chez des patients anosmiques ou hyposmiques, incluant des patients avec un trouble congénital, post-viral et post-traumatique, le nombre de régions activées est réduit et l'activité est significativement réduite dans le cortex préfrontal, orbitofrontal, somatosensoriel primaire et

secondaire ainsi que l'insula (Hummel *et al.*, 2009; Iannilli *et al.*, 2007; Iannilli *et al.*, 2011). Cette réduction est plus importante chez les patients anosmiques qu'hyposmiques et est prédominante dans le lobe droit (Iannilli *et al.*, 2011). Une activation plus forte a été retrouvée dans d'autres régions des lobes frontal, temporal et limbique reflétant un patron d'activation significativement différent entre ces patients et des contrôles (Iannilli *et al.*, 2007; Iannilli *et al.*, 2011; Reichert et Schopf, 2018). Ces études doivent être interprétées avec prudence puisqu'elles incluent aussi des patients avec une anosmie congénitale qui présentent des altérations cérébrales différentes des formes d'anosmies acquises (Han *et al.*, 2019).

En outre, la connectivité fonctionnelle des réseaux trigéminaux est altérée chez les patients avec une anosmie post-virale. Plus précisément, une réduction de 44,5% des connexions fonctionnelles a été rapportée dans le réseau somatosensoriel (incluant des régions liées à la perception de la douleur, entre autres, le cortex somatosensoriel primaire et secondaire et l'insula) ainsi qu'une réduction de 68,3% des connexions du réseau d'intégration multisensorielle (incluant le cortex orbitofrontal, l'insula, le lobule pariétal inférieur et les gyrus temporaux moyen et inférieur) (Kolndorfer *et al.*, 2015a). Dans le même ordre d'idée, une réduction des connexions fonctionnelles est observée, lors d'une tâche de reniflement, entre des régions du système olfactif avec d'autres régions du cerveau incluant des régions de traitement de l'information trigéminal comme le cortex somatosensoriel (Kolndorfer *et al.*, 2015b). Ainsi l'altération de l'odorat n'entraîne pas seulement une réduction de connectivité du système olfactif, mais aussi de divers réseaux cérébraux incluant le réseau trigéminal (Kolndorfer *et al.*, 2015b; Reichert et Schopf, 2018).

1.2.5.4. Altérations selon les différentes étiologies

Différentes étiologies à l'origine des troubles de l'odorat sont incluses dans ces études et elles sont rarement comparées entre elles. Malgré cela, il a été suggéré que l'étiologie pourrait peut-être affecter différemment la fonction trigéminal, par exemple le seuil de détection trigéminal est plus élevé chez des patients avec un trouble de l'odorat lié à un TCC qu'une infection virale (Frasnelli *et al.*, 2006). Cependant, les résultats d'une étude rétrospective récente incluant 178 patients avec des troubles de l'odorat post-viral, post-traumatique, sinu-nasal et

idiopathique, suggère que l'altération de la fonction trigéminal ne dépendrait pas de l'étiologie du trouble de l'odorat (Migneault-Bouchard *et al.*, 2019).

L'anomie congénitale, pour sa part, affecte différemment la fonction trigéminal que les patients avec une anosmie acquise, ces patients présentant une atteinte moins sévère (Frasnelli *et al.*, 2007b).

La fonction trigéminal est aussi affectée par l'âge, la sensibilité étant réduite avec l'âge, comme c'est le cas pour l'olfaction (Frasnelli et Hummel, 2003; Murphy, 1983).

Pour ce qui est du trouble de l'odorat lié à des maladies neurodégénératives, il n'est pas clair si la sensibilité trigéminal est aussi affectée puisqu'aucune étude ne s'est penchée directement sur cette question.

1.3. Le trouble de l'odorat dans la maladie de Parkinson

1.3.1. Patron clinique et généralités

1.3.1.1. Prévalence

Des centaines de publications ont démontré un trouble de l'odorat chez les patients atteints de la MP en comparaison avec des participants contrôles. Le trouble de l'odorat est robuste et affecte plus de 90% des patients atteints de la MP (Doty *et al.*, 1995; Doty, 2012a). Une large étude sur 400 patients de trois populations différentes a démontré que 96,7% des patients présentaient un trouble de l'odorat (Haehner *et al.*, 2009a), bien qu'une autre étude ait démontré un taux plus bas autour de 75% (Hawkes *et al.*, 1997), ces données variant en fonction des tests olfactifs utilisés ainsi que des données normatives appliquées.

Le trouble de l'odorat est bilatéral (Doty *et al.*, 1992), il affecte les fonctions de seuil de détection, de discrimination, d'identification et de perception des odeurs. De plus, il est généralisé et n'est pas associé à aucun odorant en particulier (Doty *et al.*, 1988; Haehner *et al.*, 2009b). Les patients peuvent présenter une anosmie ou une hyposmie, dans cette étude multicentrique, 45% des patients présentaient une anosmie fonctionnelle et 51,7 %, une hyposmie (Haehner *et al.*, 2009a). Un faible pourcentage de patients ne présente pas de trouble de l'odorat, il a même été suggéré que ces patients présenteraient un phénotype différent de la maladie avec un profil clinique plus bénin (Lee *et al.*, 2015).

1.3.1.2. Association avec la durée de la maladie et l'atteinte motrice

Il est bien établi que le trouble de l'odorat est déjà présent lors du diagnostic de la MP, apparaissant même plusieurs années avant. Conséquemment, un bon nombre d'études ont démontré un trouble de l'odorat chez des patients nouvellement diagnostiqué avec la MP (Doty *et al.*, 1988; Müller *et al.*, 2002; Ponsen *et al.*, 2004; Tissingh *et al.*, 2001). Les études longitudinales démontrent qu'il demeure stable au cours de la maladie et par conséquent, la grande majorité des études n'ont pas rapporté de corrélation entre le trouble de l'odorat et la durée de la maladie (Doty *et al.*, 1988; Doty *et al.*, 1992; Haehner *et al.*, 2009a; Hawkes *et al.*, 1997; Herting *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2015; Masala *et al.*, 2018; Stern *et al.*, 1994) ou la sévérité des symptômes moteurs (Barz *et al.*, 1997; Boesveldt *et al.*, 2008; Haehner *et al.*, 2009a; Herting

et al., 2008; Ramaker *et al.*, 2002). Il est toutefois à noter que cette généralisation n'est peut-être pas applicable à tous les patients puisque certaines études ont montré des corrélations entre des mesures de l'olfaction et la durée de la maladie (Boesveldt *et al.*, 2008; Deeb *et al.*, 2010), la sévérité des symptômes moteurs (Cavaco *et al.*, 2015; Deeb *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2015; Masala *et al.*, 2018) ainsi que le degré de perte dopaminergique de la voie nigro-striée (Roos *et al.*, 2019). La médication dopaminergique anti-parkinsonienne n'a cependant pas d'influence sur le déficit olfactif, celui-ci étant similaire chez des patients jamais médicamentés, non médicamentés ou médicamentés (Doty *et al.*, 1992).

1.3.1.3. Association à d'autres symptômes non-moteurs

Le trouble de l'odorat a été associé à plusieurs autres symptômes non moteurs, dont la dépression, les troubles du sommeil, l'apathie, les troubles cognitifs, les troubles de la fonction autonome et les troubles psychiatriques (Masala *et al.*, 2018; Roos *et al.*, 2019). De plus, il s'avère intéressant pour prédire le profil d'atteinte cognitive, puisqu'une atteinte de l'odorat plus sévère à des stades précoces de la MP a été associée à un déclin cognitif plus prononcé et rapide et à des risques plus élevés de développer des troubles cognitifs et de la démence (Baba *et al.*, 2012; Fullard *et al.*, 2016; Postuma et Gagnon, 2010; Stephenson *et al.*, 2010).

1.3.1.4. Effet d'un entraînement olfactif

Le regain de la fonction olfactive n'est typiquement pas probable bien qu'un entraînement olfactif puisse permettre de faibles effets bénéfiques soit principalement une augmentation de la sensibilité aux odeurs (Haehner *et al.*, 2013; Knudsen *et al.*, 2015; Sorokowska *et al.*, 2017). Un entraînement olfactif de 12 semaines chez 70 patients a rapporté une amélioration de la fonction olfactive chez 20% des patients, aucun changement chez 74% des patients et une diminution de l'odorat chez 6% des patients (Haehner *et al.*, 2013).

1.3.2. Autres altérations chimiosensorielles dans la MP

1.3.2.1. Altérations du système trigéminal

Il n'est pas clair si la sensibilité trigéminal est aussi affectée dans la MP, aucune étude ne s'était penchée spécifiquement sur l'évaluation du système trigéminal dans la MP, avant

celles présentées dans cette thèse. Puisque la sensibilité trigéminal est réduite chez les personnes avec un trouble de l'odorat, nous pourrions nous attendre à une réponse similaire dans la MP. Certains résultats suggèrent toutefois que le système trigéminal ne serait peut-être pas affecté dans la MP. Une étude ayant enregistré des potentiels évoqués trigéminaux en réponse au CO₂ n'a rapporté aucune différence alors que les potentiels évoqués olfactifs étaient altérés, en comparaison à des contrôles (Barz *et al.*, 1997). D'autres études sont donc nécessaires pour mieux évaluer la fonction trigéminal dans le trouble de l'odorat associé à la MP.

1.3.2.2. Altérations du goût et de la fonction olfactive rétronasale

Bien que la fonction du goût ait été beaucoup moins étudiée dans la MP, un trouble de la gustation a aussi été rapporté en comparaison avec des contrôles chez environ 22 à 27% des patients (Cecchini *et al.*, 2014; Deeb *et al.*, 2010; Haehner *et al.*, 2019; Shah *et al.*, 2009).

La fonction olfactive rétronasale est aussi altérée dans la MP comparativement à des contrôles, affectant ainsi la perception des saveurs dans la MP (Landis *et al.*, 2009). La fonction rétronasale est mieux préservée lorsque comparée avec le degré d'atteinte de la fonction orthonasale, les résultats de ces 2 tests olfactifs n'étant pas corrélés ensemble dans la MP comparativement aux TONP où ils sont corrélés ensemble (Aubry-Lafontaine *et al.*, 2020). Les résultats de cet article sont présentés en Annexe 2.

1.3.3. Altérations liées au trouble de l'odorat dans la MP

La cause du trouble de l'odorat dans la MP n'est toujours pas claire et très peu comprise. Les hypothèses émises suggèrent que la présence pathologique de corps de Lewy dans le système olfactif, des altérations structurales et fonctionnelles dans les centres de traitements olfactifs, des altérations de différents neurotransmetteurs et/ou des facteurs environnementaux contribueraient au trouble de l'odorat dans la MP.

1.3.3.1. Atteinte de la muqueuse olfactive

Il n'y a que très peu d'information sur l'atteinte de la muqueuse nasale dans la MP. Quelques études post-mortem, présentant un nombre plutôt limité de patients, ont observé la présence d' α -synucléine dans la muqueuse olfactive dans 8 à 85% des patients atteints de la MP

(Arnold *et al.*, 2010; Duda *et al.*, 1999; Funabe *et al.*, 2013; Jellinger, 2009) ceux-ci ayant aussi été rapportés chez les contrôles (Schneider *et al.*, 2016). Une seule étude immunohistochimique a été réalisée chez le vivant, dans laquelle des biopsies de l'épithélium olfactif ont été prélevées chez 7 patients atteints de la MP, la présence d' α -synucléine n'a pas été détectée chez ces patients. De plus, aucune différence histo-morphologique n'a été retrouvée lorsque ces patients étaient comparés à 18 contrôles incluant des patients avec d'autres troubles de l'odorat non reliés à une maladie neurodégénérative (Witt *et al.*, 2009). En outre, lors de l'enregistrement EEG de la muqueuse olfactive pendant la présentation d'odeurs chez l'animal, aucune différence n'a été observée entre un modèle de la MP et son contrôle (Kurtenbach *et al.*, 2013).

La littérature indique donc que la maladie ne semble pas affecter le système olfactif périphérique et débiterait plutôt centralement.

1.3.3.2. Atteinte du bulbe olfactif

Pathologie de Lewy et atteintes cellulaires

Le bulbe olfactif est considéré comme étant la première ou l'une des premières régions atteintes par la présence pathologique de corps de Lewy (Braak *et al.*, 2002; Daniel et Hawkes, 1992; Fujishiro *et al.*, 2008; Hubbard *et al.*, 2007; Pearce *et al.*, 1995; Sengoku *et al.*, 2008). L'atteinte du bulbe olfactif est d'importance cruciale dans le développement de la MP, en lien avec l'hypothèse du vecteur olfactif dans laquelle le bulbe olfactif serait un site vulnérable pour le développement de la pathologie ou un point d'entrée potentiel pour des agents pathogènes en raison de sa proximité avec le milieu extérieur (Braak *et al.*, 2003b; Hawkes *et al.*, 2007). En effet, la présence d' α -synucléine dans le bulbe olfactif et le tractus olfactif a été démontrée comme étant un marqueur important du développement et de la distribution des corps de Lewy dans la MP, avec une sensibilité de 95% et une spécificité de 91% (Beach *et al.*, 2009b). Les patients présentant une atteinte isolée du bulbe olfactif à l'autopsie étant donc considérés comme étant dans une phase précoce de la maladie (Beach *et al.*, 2009b). Bien que 95% des patients avec la MP présentent des agrégats pathologiques d' α -synucléine dans le bulbe olfactif, ils ont aussi été rapportés chez 17% des contrôles (Beach *et al.*, 2009b; Bloch *et al.*, 2006). Le bulbe olfactif présente une vulnérabilité aux corps de Lewy (Beach *et al.*, 2009b) qui pourrait être reliée à la présence d'axones finement myélinisés et longs (Braak *et al.*, 2004), la présence d'un haut degré de plasticité neuronale (Duda *et al.*, 1999; Hubbard *et al.*, 2007) ou l'exposition à

des toxines du milieu externe (Braak *et al.*, 2003b; Hawkes *et al.*, 2007), bien que ces théories demeurent spéculatives. Chez le vivant, le bulbe olfactif n'est pas accessible facilement et aucune étude n'y a évalué la présence pathologique de corps de Lewy (Beach *et al.*, 2009b).

En plus de la présence de pathologie de Lewy, une augmentation de cellules dopaminergiques inhibitrices a aussi été rapportée dans le bulbe olfactif et serait potentiellement reliée à un mécanisme de compensation à la suite de la perte dopaminergique des ganglions de la base (Huisman *et al.*, 2004; Huisman *et al.*, 2008).

Volume du bulbe olfactif

En lien avec les altérations cellulaires du bulbe olfactif, son volume est aussi typiquement réduit chez les patients atteints de la MP (Brodoehl *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2014b; Hang *et al.*, 2015; Tanik *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2011), bien que quelques études n'aient pas démontré de différences lorsque comparé à des contrôles (Altinayar *et al.*, 2014; Hakyemez *et al.*, 2013; Hummel *et al.*, 2010b; Mueller *et al.*, 2005a; Paschen *et al.*, 2015). Ces résultats peuvent être reliés à une faible taille d'échantillon ou à l'échantillon sélectionné puisque les résultats d'une méta-analyse confirment une réduction du volume du bulbe olfactif dans la MP lorsque comparés à des contrôles (Li *et al.*, 2016). Cette réduction étant aussi typiquement corrélée à la réduction de la fonction olfactive (Brodoehl *et al.*, 2012; Hang *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2011). La réduction du volume du bulbe olfactif est aussi accompagnée d'une réduction de la profondeur du sulcus olfactif (Tanik *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2011), bien qu'une étude n'ait pas relevé de différences (Hang *et al.*, 2015).

En somme, ces observations suggèrent que l'altération du traitement olfactif est, du moins en partie, due à une altération structurelle du bulbe olfactif. En outre, de nouvelles techniques d'enregistrement EEG de l'activité du bulbe olfactif chez l'humain sont cours d'étude chez les patients avec la MP et sont prometteuses pour caractériser l'atteinte fonctionnelle du bulbe olfactif (Iravani *et al.*, 2020).

1.3.3.3. Autres altérations du système nerveux central

Pathologie de Lewy et atteintes cellulaires

Au-delà du bulbe olfactif, les études post-mortem ont aussi démontré la présence d'une haute densité de pathologie de Lewy et de perte cellulaire dans d'autres régions du SNC

impliquées dans le traitement de l'information olfactive telles que le cortex piriforme, le complexe amygdaloïde, le cortex entorhinal ainsi que la formation hippocampale (Braak *et al.*, 2003a; Harding *et al.*, 2002; Silveira-Moriyama *et al.*, 2009). Ces résultats ont aussi été observés dans un modèle de souris transgéniques de la MP présentant une surexpression de la protéine α -synucléine (Ubeda-Banon *et al.*, 2010; Ubeda-Banon *et al.*, 2012). Ces altérations pourraient contribuer à une perte de l'odorat, bien qu'il ne soit pas clair si la présence de pathologie de Lewy à elle seule peut causer la dysfonction de l'odorat.

Altérations structurelles de la matière grise et blanche

Des altérations structurelles de la matière grise au sein du système olfactif ont été associées au trouble de l'odorat dans la MP. Plus spécifiquement, l'atrophie corticale du cortex piriforme droit, chez des patients en début de maladie (stade H&Y médian 1,5), et de l'amygdale droite, chez des patients en stade modérément avancé (stade H&Y médian 2,5), a été corrélée avec la performance olfactive mesurée par le SDI (Wattendorf *et al.*, 2009). L'atrophie du cortex orbitofrontal et du cortex piriforme a aussi été rapportée et corrélée avec le résultat d'identification olfactif (Lee *et al.*, 2014). Une atrophie du système olfactif et limbique dans la MP a aussi été rapportée par d'autres publications, soit une atrophie du cortex piriforme, de l'amygdale et du cortex entorhinal (Chen *et al.*, 2014b), du cortex parra-hippocampal et orbitofrontal (Su *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2011), du gyrus lingual, du gyrus frontal inférieur, du cortex cingulaire postérieur et de l'insula (Su *et al.*, 2015). Chez des patients atteints de MP présentant un trouble de l'odorat sévère, une atrophie de l'amygdale, du cortex préfrontal latéral, médial et temporal, du cortex cingulaire, du précuneus et de l'operculum doit est observée (Baba *et al.*, 2012). En contraste, une augmentation du volume de la partie postérieure de l'insula a été rapportée, ce qui pourrait être relié à un mécanisme de compensation (Yoneyama *et al.*, 2018). Dans une étude longitudinale sur une durée de quatre ans, le déclin de la fonction d'identification olfactive a été associé à une réduction du volume des ganglions de la base soit du thalamus droit, du noyau caudé droit ainsi que du putamen gauche, en comparaison avec des contrôles (Campabadal *et al.*, 2017). En concordance, la performance olfactive a aussi été

corrélée à la densité de la matière grise du noyau caudé, du putamen (Lee *et al.*, 2014) et du thalamus (Hwang *et al.*, 2019).

Des altérations microstructurelles de la matière blanche ont aussi été rapportées dans le système olfactif de patients atteints de la MP, de patients en phase prodromale de la MP et aussi chez des patients à haut risque de développer la MP (Bergamino *et al.*, 2020; Heldmann *et al.*, 2018; Sanjari Moghaddam *et al.*, 2019). En effet, une altération de l'anisotropie fonctionnelle et une augmentation de la diffusivité moyenne, des mesures de l'intégrité structurale axonale, ont été rapportées et corrélées avec le score d'identification olfactif dans le tractus olfactif bilatéral (Scherfler *et al.*, 2006) et le noyau olfactif antérieur droit de patients en début de MP (Joshi *et al.*, 2017; Rolheiser *et al.*, 2011). De plus, une mauvaise performance au test d'identification olfactif a été corrélée avec la perte d'intégrité des fibres de la matière blanche adjacente au cortex piriforme et au cortex orbitofrontal (Ibarretxe-Bilbao *et al.*, 2010) ainsi qu'entre le cortex orbitofrontal et le gyrus droit (Wen *et al.*, 2017). Ces données supportent la notion de dommages axonaux au sein du système olfactif et d'autres régions cérébrales, dont la substance noire, dans la phase prodromale de la MP (Sobhani *et al.*, 2019).

Ces évidences suggèrent donc que l'altération du traitement olfactif est associée à un déclin structural des centres olfactifs, de régions limbiques et des ganglions de la base.

Altérations fonctionnelles

Quelques études ont enregistré l'activité cérébrale à l'aide de l'IRMf lors de la réalisation d'une tâche olfactive impliquant la présentation d'odeurs. Ces études démontrent bien une activation de régions responsables du traitement olfactif, mais avec la présence d'un patron d'activation qui est largement altéré. Une profonde hyperactivation des cortex piriforme et orbitofrontal (Moessnang *et al.*, 2011) ainsi qu'une réduction de l'activité de l'amygdale, de l'hippocampe (Hummel *et al.*, 2010a; Welge-Lussen *et al.*, 2009; Westermann *et al.*, 2008) et de l'insula (Georgiopoulos *et al.*, 2019) ont été rapportées. De plus, une réduction de la sélectivité de l'activation cérébrale en réponse à une stimulation olfactive ainsi qu'une réduction de la discrimination entre le signal (stimulation olfactive) et le bruit (aucune stimulation) de l'amygdale, l'hippocampe et le cortex orbitofrontal ont été rapportées (Moessnang *et al.*, 2011). Chez des patients avec un trouble de l'odorat sévère, en comparaison avec ceux présentant un

trouble de l'odorat faible à modéré, une activation réduite de l'amygdale, du gyrus parahippocampal, du gyrus frontal inférieur, de l'insula, du gyrus cingulaire, du striatum et du gyrus temporal inférieur a été rapportée (Welge-Lussen *et al.*, 2009). De plus, une hyperactivation du gyrus frontal inférieur, du cortex cingulaire antérieur, du striatum antérieur gauche et ventral droit a été rapportée, cette hyperactivation pourrait être reliée à un mécanisme de compensation dans des régions régulées par l'innervation dopaminergique non affectées par le déficit dopaminergique de la voie nigro-striée (Hummel *et al.*, 2010a; Westermann *et al.*, 2008). Une réduction du métabolisme est observable dans l'amygdale et le cortex piriforme par utilisation de l'imagerie de tomographie par émission de positrons (TEP) du glucose (Baba *et al.*, 2011). Lorsque l'EEG est utilisée, l'activité cérébrale est réduite chez les patients, les composantes des potentiels évoqués centraux sont typiquement fortement retardées ou absentes en réponse à des odeurs (Hawkes *et al.*, 1997; Hummel *et al.*, 1993; Welge-Lussen *et al.*, 2009).

La connectivité fonctionnelle a aussi été étudiée extensivement dans la MP, diverses altérations ont été rapportées au stade de repos dans plusieurs réseaux connus et certaines altérations ont aussi été corrélées à divers symptômes non-moteurs cliniques, dont l'altération de l'odorat. Chez des patients nouvellement diagnostiqués et non médicamenteux, les patients avec une performance olfactive faible, moyenne et élevée ont démontré des patrons de connectivité différents en utilisant le cortex cingulaire postérieur et le noyau caudé comme région d'intérêt (Sunwoo *et al.*, 2015). Plus spécifiquement, la performance olfactive a été corrélée à la réduction de connectivité du cortex cingulaire postérieur avec d'autres régions corticales dont le gyrus post-central, le gyrus frontal moyen et supérieur et négativement corrélé à la connectivité du noyau caudé avec le précunéus, le gyrus précentral, frontal médial, médial occipital et lingual (Sunwoo *et al.*, 2015). Une étude chez des patients avec un trouble de l'odorat sévère, en comparaison avec des patients avec une réduction mineure ou absente de l'odorat, démontre que le trouble de l'odorat sévère est associé à une réduction de la connectivité du cortex limbique et para-limbique, particulièrement entre des régions d'intérêt qui incluent le gyrus droit, le cortex orbitofrontal, le gyrus frontal inférieur, l'amygdale, le pôle supérieur temporal, le gyrus parahippocampique, le cortex cingulaire postérieur et l'insula (Su *et al.*, 2015). De plus, un trouble de l'odorat sévère a été associé à une réduction de la connectivité de l'amygdale particulièrement avec le lobule pariétal inférieur, le gyrus lingual, fusiforme,

temporal médial et supérieur (Yoneyama *et al.*, 2018). Dans une étude regardant spécifiquement la connectivité de régions d'intérêt olfactives chez des patients avec la MP présentant de la démence, une réduction de la connectivité entre le cortex orbitofrontal et le cortex temporal et frontal ainsi que l'insula était corrélée avec la performance olfactive (Lee *et al.*, 2020).

En somme, ces résultats suggèrent que l'altération fonctionnelle du système olfactif, limbique et striatal est pertinente au trouble de l'odorat associé à la MP, ce qui concorde avec l'altération structurelle de ces régions. Des mécanismes de compensations spécifiques liés à la pathophysiologie de la MP sont impliqués menant à l'hyperactivation de certaines régions en plus de la réduction de l'activation cérébrale observée. Le patron de connectivité fonctionnelle au repos peut montrer une augmentation ou réduction de la connectivité fonctionnelle et diffère selon la performance olfactive des patients.

1.3.3.4. Altérations des neurotransmetteurs

Les déficits olfactifs peuvent aussi être reliés à une altération de différents neurotransmetteurs, tels que l'acétylcholine, la dopamine, la norépinéphrine et la sérotonine, qui peuvent être impliqués dans le contrôle ou la modulation de la transmission neuronale olfactive (Benarroch, 2010; Doty, 2017; Doty et Hawkes, 2019).

Déficit cholinergique

Quelques observations supportent que le déficit cholinergique puisse être, du moins en partie, responsable du trouble de l'odorat associé à la MP. Le système cholinergique module effectivement plusieurs aspects de l'olfaction et son altération pourrait être impliquée dans le trouble de l'odorat associé à la MP, d'Alzheimer et d'autres troubles neurologiques (Doty, 2012b). Le noyau basal de Meynert, qui est la principale source de neurones cholinergiques possédant, entre autres, des projections vers les centres olfactifs, est significativement affecté tôt dans le développement de la MP et d'Alzheimer (Nakano et Hirano, 1984; Rogers *et al.*, 1985). L'activité de l'acétylcholinestérase (AChE, responsable de la dégradation de l'acétylcholine) des voies cholinergiques ascendantes mesurée par TEP, une mesure de l'intégrité de la voie cholinergique, est significativement réduite dans la MP (Bohnen et Albin, 2011; Shinotoh *et al.*, 1999). De plus, chez des patients nouvellement diagnostiqués avec la MP, une association positive entre une mauvaise performance au test d'identification olfactif et d'une

diminution de l'activité de l'AChE a été rapportée dans de régions corticales limbiques comme l'hippocampe et l'amygdale ainsi que le néocortex (Bohnen *et al.*, 2010). Il est aussi intéressant de noter que l'activité de l'AChE mesurée post-mortem chez des patients sans démence est équivalente en stade précoce et en stade avancé, démontrant que le déficit cholinergique resterait stable au cours de la maladie, en lien avec les déficits olfactifs qui ne progressent pas avec la maladie (Shimada *et al.*, 2009). En outre, le trouble de l'odorat sévère dans la MP a été associé à une réduction d'un marqueur de l'activité et de l'intégrité cholinergique, soit l'inhibition afférente à courte latence (*Short latency afferent inhibition*), mesurée par la stimulation magnétique transcrânienne (TMS) (Versace *et al.*, 2017).

Ces observations indiquent que la dénervation cholinergique de régions limbiques peut contribuer à la pathophysiologie du trouble de l'odorat associé à la MP. En lien avec le rôle cholinergique dans le développement de la démence, les déficits cholinergiques précoces et progressifs semblent aussi expliquer le lien entre les troubles de l'odorat précoces et le risque augmenté de développement de démence.

Déficit dopaminergique

Bien que les évidences soient moins convaincantes quant à l'implication du déficit dopaminergique dans le trouble de l'odorat, des associations ont aussi été notées entre la performance olfactive et les dommages dopaminergiques. Des corrélations modestes, mais significatives, sont rapportées entre la fonction d'identification olfactive et l'activité du transporteur dopaminergique du striatum (Berendse *et al.*, 2011; Bohnen *et al.*, 2007; Deeb *et al.*, 2010; Siderowf *et al.*, 2005) et de l'hippocampe (Bohnen *et al.*, 2008a), bien que deux autres études n'aient pas démontré de telles corrélations (Chou et Bohnen, 2009; Lehrner *et al.*, 1995). Les corrélations observées sont plus fortes dans l'hippocampe que dans le putamen et le noyau caudé (Bohnen *et al.*, 2008a; Siderowf *et al.*, 2005). Ce qui suggère que la dénervation dopaminergique de l'hippocampe pourrait être, en partie, impliquée dans la pathophysiologie du trouble de l'odorat (Bohnen et Muller, 2013). La présence de pathologie de Lewy dans l'aire tegmentale ventrale serait associée à la dégénérescence des projections dopaminergiques limbiques et ascendantes méso-corticales frontales et potentiellement impliquées dans le trouble de l'odorat (Braak *et al.*, 2003a; Jellinger, 1991).

Ces observations n'expliquent qu'en très faible partie le trouble de l'odorat en considérant que l'odorat ne s'améliore pas sous médication dopaminergique et que celui-ci ne présente typiquement pas de relation linéaire avec le stade ou la sévérité des symptômes moteurs (Doty *et al.*, 1992; Meusel *et al.*, 2010). Conséquemment, le déficit cholinergique est un déterminant plus robuste du déficit olfactif que la dégénérescence dopaminergique (Bohnen *et al.*, 2010).

Autres neurotransmetteurs

Il n'y a que très peu d'évidences pour l'implication d'autres neurotransmetteurs comme la norépinéphrine, la sérotonine et GABA. Bien que leur rôle dans le trouble de l'odorat associé à la MP ne puisse pas être totalement exclu, il semble très peu probable qu'ils aient une grande influence. Toutefois, il est évident que tous ces neurotransmetteurs interagissent ensemble, ce qui suggère une plus grande complexité (Doty, 2017).

En somme, différentes altérations centrales structurelles et fonctionnelles ainsi que l'altération de neurotransmetteurs contribuent à mieux comprendre le trouble de l'odorat dans la MP. Cependant, comme ces résultats sont obtenus en comparaison avec des contrôles ayant un odorat normal, une comparaison de ces mesures avec des patients présentant d'autres formes de troubles de l'odorat apporterait plus d'information sur le trouble de l'odorat spécifique à la MP.

1.3.4. L'odorat dans le diagnostic et le diagnostic précoce

Le trouble de l'odorat est maintenant reconnu depuis quelques années comme critère de support pour le diagnostic clinique de la MP et est inclus dans les critères de la MDS (Postuma *et al.*, 2015a). Il permet de différencier les patients des contrôles avec une haute sensibilité et spécificité, un test de l'odorat permet même une meilleure discrimination que les tests mesurant les symptômes moteurs ou une imagerie dopaminergique par exemple (Bohnen *et al.*, 2008b; Deeb *et al.*, 2010; Nielsen *et al.*, 2018). En plus d'être utile au diagnostic clinique, le trouble de l'odorat a beaucoup de potentiel pour aider au diagnostic précoce de la maladie.

En effet, une multitude d'évidences montrent que le trouble de l'odorat apparaît plusieurs années avant le développement de symptômes cliniques de la MP. Il est donc considéré comme

un marqueur précoce intéressant dans la MP pour le développement d'outils de dépistage précoce. La durée entre l'apparition du trouble de l'odorat et le diagnostic de la MP est toujours un sujet de débat, certaines études suggèrent 4 à 7 ans, d'autres études suggèrent qu'elle serait de plus de 10 ans et pourrait même s'étendre jusqu'à 20 ans (Gaig et Tolosa, 2009; Haehner *et al.*, 2019; Morrish *et al.*, 1998). Le trouble de l'odorat a été identifié comme un prédicteur du développement de la MP dans une large étude longitudinale sur 2267 hommes âgés (Honolulu Asia Aging Study), les 45 patients ayant développé la MP présentaient un trouble de l'odorat au moins 4 ans avant leur diagnostic (Ross *et al.*, 2008). De plus, 10 de 55 patients, soit 18%, présentant un trouble de l'odorat franc présentaient aussi des cors de Lewy à l'autopsie (stade Braak I et II) (Ross *et al.*, 2006). Dans une étude chez des personnes avec un parent au premier degré atteint de la MP, sur 40 personnes avec un trouble de l'odorat idiopathique, 5 d'entre eux, soit 10 %, ont développé la MP sur un suivi de 2 ans (Ponsen *et al.*, 2009). De plus, dans une large étude chez des patients avec un trouble de l'odorat idiopathique, 45 patients sur 474, soit 10,9%, ont développé la MP entre 3 à 20 ans après la première visite en clinique, en moyenne 10,9 années, après l'apparition du trouble de l'odorat (Haehner *et al.*, 2019).

Le trouble de l'odorat est définitivement d'intérêt particulier comme marqueur préclinique ou prémoteur, mais son utilisation comme outil de dépistage précoce est toutefois critiquée en raison de sa faible spécificité puisqu'il affecte environ 20% de la population et que seulement 1% de la population souffre de la MP (Linazasoro, 2008). Toutefois, bien que le trouble de l'odorat à lui seul ne puisse être utilisé seul comme outil de dépistage précoce à large échelle, sa combinaison avec d'autres marqueurs précoces est prometteuse. Par exemple, lorsque l'hyper-échogénicité de la substance noire, mesurée par échographie transcrânienne, est prise en compte avec le trouble de l'odorat, le taux augmente à 18% des participants qui développent la MP (Berg *et al.*, 2011; Sommer *et al.*, 2004; Tunc *et al.*, 2015). Chez des participants avec une réduction de l'odorat combinée à une imagerie anormale du transporteur de dopamine du putamen, un taux de conversion vers la MP de 67% a été rapporté sur un suivi de 4 ans (Jennings *et al.*, 2017). L'utilisation d'un algorithme comme le PREDICT-PD, combinant plusieurs symptômes non-moteurs, permet d'identifier des personnes à plus haut risque de développer la MP et constitue un outil précieux pour un premier dépistage dans la population. Dans cet algorithme, un score de prédiction de développement de la MP plus élevé

a été associé à certains facteurs de risques dont le trouble de l'odorat soulignant l'importance de ce marqueur (Marini *et al.*, 2020; Noyce *et al.*, 2017).

1.3.5. Diagnostic différentiel d'autres syndromes parkinsoniens

Plusieurs études ont suggéré que l'étude du trouble de l'odorat pourrait aussi avoir une utilité pour le diagnostic différentiel d'autres syndromes parkinsoniens (Müller *et al.*, 2002; Wenning *et al.*, 1995), bien que les études aient mené à des résultats mixtes (Katzenschlager et Lees, 2004; McKinnon *et al.*, 2007). Selon une revue de littérature, 10 études ont tenté de différencier la MP d'autres syndromes parkinsoniens par l'utilisation de tests de l'odorat et ont démontré une sensibilité entre 62% à 92% et une spécificité entre 65% et 96% (Nielsen *et al.*, 2018). La fonction olfactive est légèrement affectée ou intacte dans des conditions comme la paralysie supranucléaire progressive, l'atrophie multisystémique, la dégénérescence corticobasale ou le parkinsonisme vasculaire, l'évaluation de l'odorat peut donc être considérée pour discriminer la MP de ces conditions (Doty, 2012b; Katzenschlager et Lees, 2004; Krismer *et al.*, 2017; Mahlkecht *et al.*, 2016; Silveira-Moriyama *et al.*, 2010). De plus, l'étude de l'odorat peut aider au diagnostic différentiel du tremblement essentiel avec une spécificité variable entre 66% et 96% (Chen *et al.*, 2012; Hernández *et al.*, 2015; Mahlkecht *et al.*, 2016; Shah *et al.*, 2008). Pour ce qui est de la démence à corps de Lewy, le phénotype olfactif est similaire à la MP et ne permet pas de différencier ces groupes (Wilson *et al.*, 2011).

Le test d'identification olfactif est donc un outil utile pour le diagnostic différentiel, mais l'exactitude demeure faible (Doty, 2012b; Nielsen *et al.*, 2018).

1.3.6. Diagnostic différentiel d'autres troubles de l'odorat

Comme décrit dans la section précédente, différentes causes peuvent être à l'origine d'un trouble de l'odorat et peuvent affecter jusqu'à 25% de la population générale. Il est donc très important de différencier un trouble de l'odorat associé à la MP comparativement à d'autres troubles de l'odorat et ainsi augmenter la spécificité du trouble de l'odorat.

Une étude rétrospective sur 1226 patients hyposmiques incluant des troubles de l'odorat post-infectieux, post-traumatiques, sinu-nasaux ou liés à la MP suggère que le patron de résultats au test olfactif est différent entre les différentes causes et reflète l'étiologie de la maladie sous-

jacente (Whitcroft *et al.*, 2017). Entre autres, les patients avec un trouble de l'odorat associé à la MP performaient mieux au seuil de détection qu'aux tests d'identification et de discrimination olfactive comparativement aux autres étiologies, néanmoins les patients avec une anosmie étaient exclus dans cette étude. Bien que l'ampleur de l'effet soit relativement faible, ces résultats soulignent que l'étude de l'olfaction peut donner d'importantes informations sur l'état du cerveau et sur l'étiologie de la maladie sous-jacente au trouble de l'odorat.

Toutefois, aucune autre étude ne s'est concentrée à différencier le trouble chimiosensoriel associé à la MP à d'autres étiologies de troubles de l'odorat. Ce qui est primordial dans le contexte où l'odorat est un marqueur précoce de la MP. Ainsi l'identification d'un profil spécifique d'atteinte de l'odorat dans la MP peut avoir une implication importante pour la recherche en lien avec la prévention de la MP et le développement de traitements de la maladie.

1.4. Objectifs et hypothèses

L'**objectif général** de cette thèse doctorale est d'apporter une meilleure compréhension de l'atteinte chimiosensorielle dans la MP afin de différencier un trouble de l'odorat spécifique à la MP. Augmenter la spécificité du trouble de l'odorat permettra potentiellement de l'utiliser dans le développement d'outils de dépistage précoce de la MP. La série d'études présentée dans cette thèse vise principalement la différenciation entre le trouble de l'odorat associé à la MP et d'autres troubles de l'odorat non associés à la MP (trouble de l'odorat non-parkinsoniens, TONP). Pour y parvenir, ces études visent une caractérisation globale de l'atteinte olfactive et trigéminal dans la MP, une meilleure compréhension de l'interaction entre le système olfactif et trigéminal dans le cas d'un système olfactif fonctionnel ou altéré dans la MP ou dans d'autres TONP. Finalement, ces études visent une meilleure compréhension des mécanismes sous-jacents impliqués dans l'altération chimiosensorielle associée spécifiquement à la MP en comparaison avec des TONP.

L'**hypothèse globale** de cette thèse est que la MP affecte les systèmes olfactif et trigéminal et l'interaction entre ces systèmes de façon particulière. Le trouble de l'odorat associé à MP serait donc différent d'autres TONP, puisqu'il est combiné avec la pathophysiologie de la maladie à l'origine de la perte olfactive. Conséquemment les patients possèderaient des caractéristiques mesurables différentes d'autres TONP qui nous permettra de différencier spécifiquement le trouble de l'odorat associé à la MP.

1.4.1. Objectifs et hypothèses spécifiques

Plus spécifiquement, cette thèse comprend 6 études ayant chacune des objectifs et hypothèses spécifiques s'intégrant dans l'objectif global.

Étude 1: La première étude présentée avait pour but la caractérisation du trouble de l'odorat et la sensibilité trigéminal chez les patients atteints de la MP en comparaison avec des patients atteints de TONP et des participants contrôles sains, par le moyen de tests comportementaux. Notre hypothèse étant que le système olfactif serait atteint, à un degré similaire, dans la MP et les TONP comparativement aux participants contrôles. En contraste, la

sensibilité trigéminala serait réduite dans les TONP comparativement aux contrôles et aux patients avec la MP, mais similaire aux contrôles et donc intacte dans la MP.

Étude 2: La deuxième étude avait pour but l'évaluation de la perception des sensations trigéminales et olfactives de stimuli mixtes chez des patients atteints de la MP en comparaison à des participants contrôles. Notre hypothèse étant que la perception des dimensions olfactives soit l'agréabilité, la familiarité et la comestibilité serait réduite par rapport aux contrôles, en contraste, la perception des dimensions trigéminales des odeurs, soit la fraîcheur, la chaleur et le picotement, serait similaire entre les patients atteints de la MP et les contrôles.

Étude 3: La troisième étude visait à mieux comprendre l'interaction entre le système olfactif et trigéminal en évaluant l'effet d'une co-stimulation olfactive sur la latéralisation de stimuli trigéminaux chez des participants sains. Notre hypothèse étant que système olfactif aura un effet d'amplification de la réponse trigéminala lors d'une co-stimulation, ipsilatérale ou controlatérale, en lien avec une interaction périphérique et centrale.

Étude 4: La quatrième étude visait une meilleure compréhension de la réponse trigéminala dans la MP par l'évaluation de la réponse électrophysiologique périphérique et centrale en réponse à un stimulus trigéminal chez des patients avec la MP en comparaison à des TONP et des participants contrôles. Notre hypothèse étant que la réponse trigéminala serait spécifiquement altérée, en périphérie et centralement, dans le trouble de l'odorat associé à la MP comparativement à d'autres TONP où la réponse trigéminala y serait réduite.

Étude 5: Puisque le bulbe olfactif est l'une des premières régions atteintes dans la MP, la cinquième étude avait pour but de différencier des images IRM du bulbe olfactif chez des patients atteints de la MP, des patients atteints de TONP et des participants contrôles par l'utilisation de différentes techniques dont la mesure manuelle du volume du bulbe olfactif et l'utilisation d'un algorithme d'apprentissage profond. Notre hypothèse étant que le bulbe olfactif et son entourage sont affectés différemment dans la MP en lien avec l'altération spécifique du bulbe olfactif dans la MP, comparativement aux TONP et aux contrôles ainsi la mesure du volume du bulbe olfactif et l'utilisation de techniques d'apprentissage profond sur des images IRM du bulbe olfactif et son entourage permettra de différencier les patients atteints de la MP des TONP.

Étude 6: La sixième et dernière étude visait l'étude de la connectivité fonctionnelle, mesurée par IRM, entre les centres de traitements de l'information chimiosensorielle, au repos et lors de la réalisation d'une tâche qui repose sur la fonction olfactive et une tâche qui repose sur la fonction trigéminal chez les patients atteints de la MP en comparaison avec des TONP et des participants contrôles. Notre hypothèse étant que les altérations de la connectivité fonctionnelle reflèteront le patron comportemental observé. Ainsi des altérations similaires seront observées dans la MP et les TONP lors de la réalisation d'une tâche olfactive en lien avec l'atteinte olfactive chez ces participants, alors que des altérations seront seulement présentes dans les TONP lors de la réalisation d'une tâche trigéminal.

Les résultats de chacune de ces études sont présentés dans les chapitres suivants (Chapitre 2 à 7) sous forme d'articles scientifiques, la contribution des auteurs et une mise en contexte propre à chaque étude sont présentées avant chaque article.

1.5. Considérations méthodologiques

Cette section décrira les méthodes utilisées, des analyses effectuées et de la population étudiée dans les différentes études présentées dans cette thèse. Les trois premiers articles présentés dans cette thèse utilisent des tests olfactifs et trigéminaux comportementaux, soit le « Sniffin' Sticks test », le test de latéralisation trigéminal et l'évaluation de la perception trigéminal et olfactive. Ces tests comportementaux ont été décrits précédemment (section 1.2). Pour les études subséquentes, des techniques de neuroimagerie utilisant l'EEG (étude 4) et l'IRM (étude 5 et 6) ont été utilisées, nous décrirons donc brièvement les techniques utilisées en discutant de leur validité, leur force et faiblesse.

1.5.1. Électrophysiologie du système olfactif et trigéminal

Il est possible d'étudier l'EEG du système trigéminal par l'enregistrement de mesures centrales, par les potentiels évoqués trigéminaux, et périphérique par le potentiel mucosal négatif. En comparaison aux mesures comportementales, l'avantage de ces techniques est qu'elles fournissent une évaluation de la fonction trigéminal indépendante de la réponse du participant et permettent de dissocier la réponse centrale de la réponse périphérique. Nous avons utilisé ces techniques en combinaison dans l'article 4 pour spécifiquement évaluer la fonction trigéminal à divers niveaux de traitements.

1.5.1.1. Potentiels évoqués olfactifs et trigéminaux

Des potentiels évoqués olfactifs ou trigéminaux peuvent être enregistrés à la surface du scalp en réponse à des stimuli chimiosensoriels. Les potentiels évoqués procurent une réponse directe de la neurotransmission médiée par l'activité neuronale. L'avantage de cette technique est qu'elle offre ainsi une haute résolution temporelle, en millisecondes (ms), permettant de fournir des informations sur le déroulement temporel de l'activation cérébrale, néanmoins elle offre une plus faible résolution spatiale. En olfaction, des potentiels évoqués peuvent être obtenus en faisant la moyenne de 10 à 30 réponses EEG à la suite de stimulations chimiosensorielles pour fournir une réponse fiable et reproductible (Rombaux *et al.*, 2006a). Le désavantage de cette technique est que l'expérimentation peut s'avérer longue en raison des temps d'attentes nécessaires entre chaque stimulation pour éviter l'habituation aux stimuli.

Ainsi, l'expérimentation peut être difficile avec des personnes plus âgées qui peuvent être fatiguées plus rapidement, menant à un enregistrement plus contaminé. Un nombre limité de répétitions sont donc incluses dans la moyenne menant à un signal moins clair.

Les potentiels chimiosensoriels sont composés principalement d'une large composante négative N1 qui est observable entre 320-450 ms après la stimulation, cette composante est suivie par une composante positive P2 observable entre 530-800 ms après la stimulation, cette dernière composante est parfois décrite en un complexe comprenant deux composantes P2 et P3. Ces composantes sont précédées d'une plus petite composante positive, P1, qui se manifeste entre 250-320 ms après la stimulation (Rombaux *et al.*, 2006a). L'amplitude des réponses varie entre 3 et 20 μ V, les amplitudes et les latences des réponses varient en fonction de l'intensité du stimulus et de la nature, trigéminal ou olfactive, du stimulus. Une stimulation olfactive entraîne une réponse pariétale/temporale et une stimulation trigéminal, une activation principalement centrale (Iannilli *et al.*, 2013). Il est généralement accepté que les composantes précoces P1 et N1 reflètent une activité corticale exogène directement liée à la détection sensorielle et dépendent exclusivement des paramètres du stimulus. En revanche, les composantes plus tardives P2 (et P3) reflèteraient l'activité corticale endogène liée à un traitement cognitif et émotionnel du stimulus (Pause *et al.*, 1996; Pause et Krauel, 2000).

Puisque des mesures pic-à-pic sont souvent utilisées dans la littérature sur l'olfaction, nous les avons utilisées dans notre étude pour comparer les différents groupes afin d'obtenir des résultats comparables à la littérature dans ce domaine. Néanmoins, d'autres techniques d'analyses, telles que des mesures de moyennes d'amplitude dans des fenêtres temporelles données, sont maintenant fortement utilisées et sont plus adéquates.

1.5.1.2. Potentiel négatif mucosal

Le potentiel mucosal négatif, en anglais le *negative mucosa potential (NMP)*, est un potentiel EEG qui peut être mesuré dans la muqueuse nasale en réponse à un stimulus trigéminal (Kobal, 1985). L'avantage de cette technique est qu'elle permet d'évaluer spécifiquement la fonction trigéminal périphérique, c'est-à-dire au niveau des récepteurs trigéminaux, permettant ainsi une dissociation de la réponse centrale et périphérique (Lotsch *et al.*, 1997). Ce signal est interprété comme une mesure du signal nociceptif périphérique, soit la somme des potentiels de

réception générés par les nocicepteurs chimiosensoriels, médié par le nerf trigéminal (Kobal, 1985; Thurauf *et al.*, 1993; Thürauf *et al.*, 1991). C'est une technique qui a été peu utilisée, dans quelques laboratoires spécialisés pour l'étude de l'olfaction, mais qui a été validée, offrant une bonne reproductibilité du signal (Hummel *et al.*, 1996b; Thurauf *et al.*, 2002). En revanche, c'est une technique qui est difficile à appliquer, qui peut être inconfortable pour le participant et qui nécessite une expertise unique disponible dans quelques rares laboratoires. De plus, la précision dans l'emplacement de l'électrode d'enregistrement est essentielle puisque différents endroits de la muqueuse nasale démontrent une sensibilité qui est variable (Scheibe *et al.*, 2012).

Le début du signal débute immédiatement après le stimulus, précédant ainsi le début du potentiel évoqué central, il représente un signal de durée beaucoup plus longue et d'amplitude beaucoup plus élevée que le potentiel évoqué central. En effet, la composante principale du signal est une grande négativité N1, d'une centaine de μV et d'une durée d'environ 2 secondes, qui varie en fonction de l'intensité du stimulus et de la douleur perçue. Ce signal est précédé d'une positivité P1 qui est non-spécifique au signal, c'est-à-dire qu'elle est indépendante de l'intensité où la douleur perçue, d'amplitude qui varie selon le stimulus, mais qui peut être aussi large que la composante négative lorsque le CO₂ est utilisé (Kobal, 1985).

1.5.1.3. Olfactomètre

Pour l'enregistrement de ces signaux EEG, un contrôle précis des stimuli est un prérequis, l'utilisation d'un olfactomètre est donc nécessaire. Cet outil, contrôlé par un ordinateur, permet de délivrer des stimuli chimiosensoriels en ajustant de façon précise la concentration, le type de stimulus, les durées de présentation et les intervalles entre les stimuli. Pour l'EEG, l'utilisation d'un olfactomètre permettant une stimulation chimiosensorielle sans stimulation mécanique et/ou thermique concomitante est requise. Celui-ci fonctionne en délivrant les odeurs de façon intégrées dans un flux d'air continu, qui est humidifié et réchauffé à température du corps de façon à ce que le flux d'air ne soit pas dérangement, ne provoquant ainsi aucun changement du flux d'air lors de la présentation d'odeurs.

Différents types d'olfactomètres existent. Certains sont portatifs et compatibles avec l'IRM, ce que nous avons utilisé pour la présentation d'odeurs dans l'IRM (Étude 6).

1.5.2. Imagerie par résonnance magnétique et différentes applications utilisées dans cette thèse

L'IRM est une technique d'imagerie qui nous permet d'obtenir une image tridimensionnelle du cerveau par la génération de contrastes entre les différents tissus du corps. C'est une technique qui a l'avantage d'être non invasive, d'où sa forte utilisation en recherche. Elle permet d'offrir une haute résolution spatiale, de l'ordre du mm, mais une plus faible résolution temporelle.

La technique implique l'émission d'un champ magnétique puissant produit par un aimant supraconducteur et l'application de radiofréquences. Elle repose sur le principe de la résonnance magnétique nucléaire. Les protons des atomes d'hydrogène, chargés positivement et tournant sur eux-mêmes, possèdent un moment magnétique de spin agissant ainsi comme un aimant. De la sorte, lorsqu'un champ magnétique est appliqué (appelé B_0), les spins, normalement orientés de manière aléatoire dans les tissus, vont tous s'aligner dans la direction du champ magnétique créant une magnétisation des tissus. Lorsque des radiofréquences sont appliquées perpendiculairement au champ magnétique (B_1), les noyaux atomiques vont absorber cette énergie et vont basculer de façon à modifier légèrement cet alignement. Lorsque les radiofréquences s'arrêtent, il y aura un moment de relaxation, la relaxation longitudinale T_1 , dans lequel le signal oscillant diminue et les spins reviennent en leur position. Ce temps de relaxation étant différent selon l'agitation moléculaire du tissu observé d'où l'origine des contrastes entre la matière grise, la matière blanche, et le liquide céphalorachidien (LCR). Le temps de relaxation transversal T_2 mesure, pour sa part, le retour à la normale de l'aimantation transversale, celle-ci étant reliée au déphasage des spins dans leur rotation transversale. Plusieurs paramètres d'acquisition peuvent être ajustés, dont la fréquence à laquelle les ondes sont émises (temps de répétition) et le moment où la capture de l'image est réalisée (temps écho), pour obtenir les pondérations T_1 ou T_2 qui mettront en évidence différentes structures.

L'étude réalisée dans le cadre de mon doctorat incluait diverses mesures IRM dont une numérisation anatomique en T_1 , une numérisation anatomique en T_2 spécifiquement centrée pour la mesure du bulbe olfactif, une IRMf au repos et pendant la réalisation de tâches olfactive et trigéminal impliquant la présentation d'odeurs ainsi qu'une imagerie de diffusion. Dans le cadre de cette thèse, l'article 5 présente les résultats quant à la mesure du bulbe olfactif et l'étude

6 les résultats de la connectivité fonctionnelle du réseau chimioensoriel au repos et pendant les tâches olfactive et trigéminal.

1.5.2.1. Mesure du volume du bulbe olfactif

Le volume du bulbe olfactif est typiquement mesuré sur des images IRM en pondération T2 qui permettent un contraste mettant en évidence les tissus du bulbe olfactif par rapport au LCR qui apparaît hyper-intense (Burmeister *et al.*, 2011b). La mesure du bulbe olfactif est réalisée par traçage manuel du contour du bulbe olfactif, séparément pour les bulbes droit et gauche, sur chacune des numérisations coronales où celui-ci est visible. L'ensemble des surfaces mesurées sont ensuite additionnées de façon à obtenir un volume en mm³ qui peut être comparé entre différents groupes. Cette technique est fortement utilisée pour l'étude de l'odorat et a été utilisée et validée par différents groupes de recherche sur différentes populations avec ou sans troubles de l'odorat (Hummel *et al.*, 2015; Rombaux *et al.*, 2009; Yousem *et al.*, 1997). Cette technique fournit une mesure qui est typiquement corrélée à la fonction olfactive (Mazal *et al.*, 2016).

Cette mesure a l'avantage d'être spécifique et personnalisée puisque l'expérimentateur observe en détail chacune des images. La littérature démontre qu'elle offre une bonne reproductibilité entre les différentes mesures d'un même expérimentateur et entre celles de différents expérimentateurs (Burmeister *et al.*, 2011a). Par le fait même, elle est toutefois largement dépendante de l'expérimentateur et nécessite que la mesure soit réalisée par une personne avec une expérience de l'anatomie du bulbe olfactif (Burmeister *et al.*, 2011a). Une faiblesse de cette technique est aussi que la séquence d'acquisition des données n'est pas universelle et que différentes publications utilisent des protocoles légèrement différents, ce qui peut présenter une limitation pour la comparaison avec d'autres études.

Nous avons utilisé cette technique de mesure du bulbe olfactif dans l'étude 5 pour comparer son volume entre des patients avec la MP, des patients avec des TONP et des contrôles.

1.5.2.2. Techniques d'apprentissage profond appliquées sur des données IRM

L'utilisation de l'apprentissage machine est de plus en plus fréquente en recherche. Son utilisation est prometteuse, entre autres, pour la classification d'images IRM dans le milieu médical et conséquemment le développement d'outils de dépistage précoce de différentes conditions ou maladies neurodégénératives (Yasaka *et al.*, 2018).

Nous avons appliqué un modèle d'apprentissage profond sur les images acquises pour la mesure du volume du bulbe olfactif afin de classer une image provenant soit d'un patient avec la MP ou d'un patient avec d'autres TONP (étude 5). Pour ce faire, nous avons sélectionné une plus petite région centrée et restreinte au bulbe olfactif et son entourage sur ces images IRM. Nous y avons appliqué un réseau de neurones convolutif, de l'anglais *convolutional neural network (CNN)*, qui est un type de réseau d'apprentissage machine profond basé sur le fonctionnement de processus biologiques. Ce type réseau s'est révélé très efficace dans des domaines tels que la reconnaissance et la classification d'images et de vidéos. L'architecture du modèle d'apprentissage comprend différentes couches impliquant diverses étapes de traitement, dont la convolution, la mise en commun, la correction et la couche entièrement connectée. Ainsi le modèle peut apprendre à reconnaître les images dans une phase d'apprentissage et permet ensuite de classer des images non préalablement présentées au modèle selon les caractéristiques apprises (Shin *et al.*, 2016). L'efficacité et la validité des CNN pour la classification d'images à des fins de diagnostic ont été démontrées par diverses publications visant, entre autres, le dépistage précoce de la MP et la recherche de marqueurs de la MP (Sivaranjini et Sujatha, 2019). L'avantage de cette technique, en lien avec son utilisation dans le cadre de notre étude, c'est qu'elle permet objectivement et automatiquement d'extraire de l'information d'une image sans la variabilité ou l'erreur humaine. Le désavantage est qu'un nombre élevé d'images IRM, et donc de participants, est nécessaire pour la validation et la généralisation du modèle.

1.5.2.3. Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle

L'IRMf est une technique utilisée pour l'étude du fonctionnement du cerveau qui permet la visualisation de régions activées lors de la réalisation d'une tâche. L'IRMf fournit une mesure indirecte de l'activité cérébrale en enregistrant le métabolisme qui en résulte. Le signal BOLD

(*Blood oxygen level-dependant*) est typiquement utilisé afin de mesurer des variations hémodynamiques cérébrales basées sur les propriétés d'aimantation de l'hémoglobine. Dans les zones cérébrales activées, une augmentation de consommation d'oxygène est observée, l'oxyhémoglobine est alors transformée en désoxyhémoglobine. Une augmentation du débit sanguin local, plus importante que la consommation d'oxygène, est aussi observée ce qui augmente la concentration d'oxyhémoglobine entraînant ainsi une diminution relative de la désoxyhémoglobine. La désoxyhémoglobine étant paramagnétique, sa variation entraîne des changements dans le signal pouvant être visualisés en pondération T2 (Ogawa *et al.*, 1990).

L'activité cérébrale au repos, de l'anglais *resting-state*, c'est-à-dire lorsqu'un participant ne réalise pas de tâche en particulier, peut aussi être enregistrée. Les fluctuations intrinsèques lentes des signaux hémodynamiques cérébraux étant structurées et spatialement reproductibles. Cette technique est de plus en plus utilisée en raison de la simplicité de la collecte de données qui ne nécessite pas la réalisation d'une tâche dans l'IRM et la possibilité qu'elle offre d'étudier la connectivité fonctionnelle de plusieurs réseaux simultanément.

1.5.2.4. Connectivité fonctionnelle

À partir de données d'IRMf, collectées au repos ou pendant la réalisation d'une tâche, il est possible d'étudier la connectivité fonctionnelle entre différentes régions du cerveau pour ainsi caractériser des réseaux fonctionnels. En contraste aux connexions dites structurelles, où un lien anatomique est existant entre des structures, la connectivité fonctionnelle représente plutôt la co-activation de différentes régions au repos ou en réponse aux changements du niveau d'activation lors d'une tâche particulière (Rogers *et al.*, 2007).

Plus spécifiquement, la connectivité fonctionnelle évalue le couplage fonctionnel entre le signal BOLD moyen d'une région au signal d'autres régions cérébrales dans une période de temps définie. Des analyses corrélationnelles du degré d'activation entre différents voxels pour un temps donné sont typiquement réalisées. Les coefficients de la matrice de corrélation obtenue représentent une estimation de l'ampleur de la connectivité fonctionnelle entre deux régions (Rogers *et al.*, 2007). Diverses techniques d'analyse ont été développées, entre autres, l'analyse basée sur les réseaux, une approche orientée par les données, peut être réalisée sur le cerveau en entier pour identifier différents réseaux de connectivité. D'autres analyses impliquent la

sélection de régions d'intérêt, selon leur rôle neuroanatomique ou fonctionnel, pour répondre à des hypothèses spécifiques. Dans ce cas, une région spécifique est sélectionnée pour y étudier ses connexions fonctionnelles avec d'autres régions spécifiques ou bien identifier le réseau de connexion de cette région avec le cerveau entier (Hampson *et al.*, 2002).

Bien que le concept de connectivité fonctionnelle ait été considéré comme controversé par certaines publications (Fingelkurts *et al.*, 2005; Horwitz, 2003), cette technique est maintenant mieux comprise et fortement utilisée en neurosciences. Elle est considérée par d'autres comme un outil de choix pour étudier les mécanismes qui sous-tendent le fonctionnement du cerveau humain en santé et leurs altérations en cas de pathologies (Pievani *et al.*, 2014). Ainsi, différents réseaux cérébraux de l'organisation de l'activité cérébrale, ayant démontré une large reproductibilité, ont été caractérisés au repos ou pendant une tâche chez des participants contrôles ainsi que dans diverses pathologies, dont les maladies neurodégénératives.

Nous avons utilisé cette technique dans l'étude 6 pour y évaluer la connectivité fonctionnelle entre diverses régions d'intérêt spécifiques au sein réseau trigéminal et olfactif, au repos et lors de la réalisation d'une tâche olfactive et d'une tâche trigéminal impliquant la présentation d'odeurs.

1.5.2.5. Réseaux cérébraux et modularité

L'étude de la connectivité du cerveau a mené à la création de cartes de réseaux neuronaux représentant les connexions structurelles et/ou fonctionnelles entre différentes régions du cerveau. L'organisation des données de connectivité peut être étudiée par une variété d'outils de la théorie des graphes et ainsi, les connexions entre les régions du cerveau peuvent être représentées comme un ensemble de nœuds (régions cérébrales) et d'arêtes (connexion) formant un réseau.

Des modules, qui peuvent être illustrés comme un groupe d'individus plus proches au sein d'un plus grand réseau social, peuvent aussi être identifiés dans des réseaux neuronaux. Un module, aussi appelé une communauté, est donc constitué d'un groupe de nœuds, par exemple des régions cérébrales, d'un plus large réseau où les nœuds d'un module sont fortement connectés ensemble, mais sont faiblement connectés aux nœuds d'autres modules identifiés. Ils

dérivent de la décomposition d'un réseau en sous-réseaux de régions cérébrales plus fortement connectées ensemble (Sporns et Betzel, 2016).

Une méthode fortement utilisée pour la détection de modules est la maximisation de la modularité. Le concept de modularité évalue globalement la force de la division de réseaux en modules, caractérisés par de fortes interconnexions. Cette méthode vise à diviser les nœuds d'un réseau en x modules ou communautés non chevauchantes, de manière à maximiser la fonction de qualité de la modularité. Globalement, une partition sera considérée comme de haute qualité si les modules qu'elle définit sont plus densément connectés que ce à quoi on pourrait s'attendre par hasard (plus grande valeur de Q). La distribution qui obtient le plus grand index de modularité (Q) est sélectionnée et représente la meilleure estimation des modules ou communautés d'un réseau.

Les différents modules des réseaux cérébraux fonctionnels représentent des groupes de régions cérébrales qui sont collectivement impliquées dans des fonctions cognitives ou comportementales au repos ou lors de la réalisation de différentes tâches (Power *et al.*, 2011). En effet, la densité des régions interconnectées, reflétée par une plus grande modularité, dans le système nerveux est une indication d'un traitement efficace et ségrégué pour effectuer diverses fonctions spécialisées (Sporns et Zwi, 2004).

Nous avons appliqué, dans l'étude 6, un algorithme pour optimiser la modularité et identifier des modules au sein des régions d'intérêt sélectionnées pour l'analyse de la connectivité fonctionnelle afin d'évaluer les régions les plus fortement connectées ensemble au repos ou lors de la réalisation d'une tâche olfactive ou trigéminal.

1.5.3. Participants et recrutement

1.5.3.1. Participants avec la maladie de Parkinson

Les participants inclus dans nos études présentaient tous un diagnostic de la MP qui a été posé par un neurologue. Les critères d'exclusions généraux de nos études incluaient la présence de syndrome parkinsonien atypique, d'autres conditions neurologiques ou toute autre condition pouvant affecter l'odorat. Pour les études 1 et 2 les participants ont été recrutés via une collaboration avec une neurologue (Dre Durand-Martel) du CIUSSS – MCQ à Trois-

Rivières et via l'association locale Parkinson Mauricie. La validation du diagnostic et les données cliniques ont donc été fournies par l'entremise de la Dre Durant-Martel. Pour ce qui est de l'étude 4, la collecte de données s'est réalisée en Allemagne, le recrutement a été réalisé via des cliniques locales, le diagnostic a été validé dans le cadre de l'étude par la Dre Haehner de notre équipe de recherche qui a ré-évalué chacun des patients et collecté les données cliniques des participants. Pour les études 5 et 6, il s'agit de la même cohorte de participants, ils ont été recrutés en collaboration avec le Réseau Parkinson Québec qui a fourni la validation du diagnostic et les données cliniques des participants.

1.5.3.2. Participants avec un trouble de l'odorat non-parkinsoniens

Les participants avec un trouble de l'odorat inclus dans nos études étaient tous des participants se plaignant d'un trouble de l'odorat. Les participants devaient présenter un résultat au test olfactif indicatif d'un trouble de l'odorat selon les critères diagnostiques suggérés (Hummel *et al.*, 2007). Ces patients n'étant pas directement pris en charge dans le système de santé actuel, le diagnostic de la cause du trouble de l'odorat a été réalisé dans notre laboratoire par une entrevue et un questionnaire basé sur des critères spécifiques à chacune des étiologies à l'origine d'un trouble de l'odorat (Hummel *et al.*, 2017). Tout participant ayant une grippe saisonnière ou ayant un signe d'une maladie neurodégénérative étant spécifiquement exclus.

Le terme trouble de l'odorat non-parkinsonien (TONP), ou en anglais *non parkinsonian olfactory dysfunction (NPOD)*, désigne un groupe de patients avec des troubles de l'odorat non reliés à une maladie neurodégénérative. Ce groupe de patients diffère légèrement selon les différentes études présentées. L'étude 1 inclut des patients avec plusieurs étiologies de troubles de l'odorat soit post-viral, sinu-nasal, post-traumatique et idiopathique. Dans les dernières études utilisant la neuroimagerie, un recrutement plus strict a été réalisé, l'étude 5-6 inclut seulement des patients avec des troubles de l'odorat post-viraux et sinu-nasaux. L'étude 4, réalisée dans un centre spécialisé en olfaction inclut seulement des patients avec un diagnostic d'un trouble de l'odorat post-viral réalisé par un médecin ORL.

1.5.3.3. Participants contrôles

Les participants contrôles ont été recrutés dans la population générale à l'aide de bouche-à-oreille et/ou d'affiches de recrutement. Ces participants ont été appariés en fonction de l'âge

et du sexe aux participants avec la MP. Les critères généraux d'inclusion et d'exclusion incluaient être en bonne santé générale, présenter un odorat dans la normale, ne pas présenter aucune condition connue pour affecter l'odorat, aucune condition neurologique ou psychiatrique, ni aucun signe de troubles moteurs.

L'étude 3 fait exception puisque nous y avons recruté des participants sains entre 18-35 ans ayant un sens de l'odorat dans la normale.

Chapitre 2. Article 1 – Trigeminal system in Parkinson's Disease: A potential avenue to detect Parkinson-specific olfactory dysfunction.

Cécilia Tremblay¹, Pascali Durand-Martel², Johannes Frasnelli^{1,3}

Publié dans le journal *Parkinsonism & Related Disorders*, (Tremblay *et al.*, 2017)

Tremblay C, Durand Martel P, Frasnelli J (2017) Trigeminal system in Parkinson's disease: A potential avenue to detect Parkinson-specific olfactory dysfunction. *Parkinsonism Relat Disord*, 44, 85-90. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2017.09.010>

Affiliations

1. Department of Anatomy, Université du Québec à Trois-Rivières (UQTR), 3351 Boulevard des Forges, Trois-Rivières, G9A 5H7, Québec, Canada

2. Department of Neurology, Centre Intégré Universitaire de Santé et de Services Sociaux de la Mauricie-et-du-Centre-du-Québec (CIUSSS-MCQ), 1991 boulevard du Carmel, Trois-Rivières, G8Z 3R9, Québec, Canada

3. Research Center, Hôpital du Sacré-Coeur, 5400 boulevard Gouin Ouest, Montréal, H4J 1C5, Québec, Canada

Contributions des auteurs

La conception, la planification de l'étude et le développement du protocole de recherche ont été réalisés par moi-même et mon directeur de thèse J. Frasnelli. J'ai été responsable du processus de demande éthique, du recrutement et de la collecte de données. J'ai participé à la rédaction d'une demande de fonds, avec J. Frasnelli, pour des projets en collaboration CIUSSS-MCQ – UQTR, que nous avons obtenue pour réaliser ce projet. J'ai effectué les analyses statistiques et rédigé le manuscrit avec l'aide de J. Frasnelli. La Dre Durand-Martel a contribué au recrutement, à la validation du diagnostic ainsi que la collecte des données cliniques des

patients avec la MP. Elle a révisé la version finale du manuscrit et a aidé à répondre aux commentaires cliniques lors de la révision de l'article.

Mise en contexte

Nous avons réalisé cette première étude qui visait une caractérisation de la sensibilité trigéminal et olfactive chez des patients avec la MP lorsque spécifiquement comparés à des participants avec des TONP afin de mieux comprendre le trouble de l'odorat spécifique à la MP. Il s'agit du premier article publié évaluant spécifiquement la sensibilité trigéminal chez les patients avec la MP. De plus, c'est aussi le premier article avec un intérêt particulier sur la différenciation du trouble de l'odorat dans la MP comparativement à d'autres troubles de l'odorat.

Abstract

Background: Olfactory dysfunction (OD) is very frequent in Parkinson's disease (PD) and observed years before diagnosis. The trigeminal system, a chemosensory system allowing for the perception of spiciness, freshness, etc., is intimately connected to the olfactory system and although usually reduced in OD the trigeminal system is not well characterized in PD. We hypothesize that measuring trigeminal sensitivity potentially allows to discriminate between OD due to PD and OD due to other causes to potentially help the development of an early diagnostic tool.

Objective: To evaluate olfactory and trigeminal sensitivity and perception in PD patients and compare them to participants with non-parkinsonian OD (NPOD) and to healthy controls.

Methods: We assessed olfactory function using "Sniffin' Sticks test" and trigeminal function with the localization task in 28 PD patients, 27 healthy controls and 21 patients with OD unrelated to PD.

Results: PD patients exhibited significantly higher trigeminal sensitivity than NPOD patients ($p = 0.002$) and performed similar to healthy controls. In contrast, PD and NPOD patients had both similar olfactory scores, significantly below healthy controls.

Conclusion: The trigeminal system seems not to be impaired in PD patients even in the presence of OD. Measuring trigeminal sensitivity may therefore allow differentiate PD-related OD from other forms of OD.

Introduction

Parkinson's disease (PD) is a common neurodegenerative disease characterized by motor symptoms including resting tremor, bradykinesia, rigidity and postural instability. While diagnosis of PD is based on these motor symptoms, onset of the disease precedes them by several years. During this pre-motor phase, numerous non-motor symptoms can be observed (e.g., olfactory disorders (OD), depression, sleep disorders, etc.). However, they are relatively unspecific and do not yet allow for an early diagnosis [1, 2]. One of these symptoms deserves particular attention: OD is a highly reliable symptom of PD and is found in up to 90-96% of patients [3, 4]. The olfactory impairment precedes motor symptoms and consequently the diagnosis of the disease by at least 4 years [5]. Therefore, olfactory testing may contribute to early recognition of PD [6, 7].

However, while OD is highly sensitive to PD, its specificity is low. In fact, about 20% of the general population exhibit OD [8] and OD can be caused by many other conditions (e.g., traumatic brain injury, viral infections, sinusal diseases etc. [9]). If one aims to use olfactory testing to screen for PD, it is therefore important to differentiate OD associated with PD from other OD caused by other conditions.

One potential avenue to do so is the assessment of the trigeminal system. This third chemosensory system, next to smell and taste, allows for the perception of, amongst others, the spiciness of hot peppers, freshness of peppermint, etc. Importantly, trigeminal sensitivity is typically reduced in patients suffering from OD [10-12]. However, one study suggests that OD associated with PD may be an exception to this rule [13]. Although trigeminal sensitivity was not directly measured, PD patients and controls exhibited similar electrophysiological responses to trigeminal stimuli. Therefore, measuring trigeminal sensitivity potentially allows to discriminate between OD caused by PD and an olfactory impairment due to other causes.

One can assess trigeminal sensitivity by the odor localization task, wherein an odor is presented to only one nostril; the participant's capacity to identify the stimulated nostril is

evaluated and serves as a proxy for trigeminal sensitivity [14]. This is based on the fact that localization of an odorous stimulus presented to one nostril is only possible if the stimulus also activates the trigeminal system (mixed olfactory/trigeminal stimuli) [15].

The aim of this study was to compare olfactory and trigeminal sensitivity as well as perception of mixed olfactory/trigeminal stimuli, in PD patients, participants with non-parkinsonian OD (NPOD), and healthy controls. We hypothesized that trigeminal sensitivity in PD patients is unaffected, in contrast to patients with NPOD. As a consequence, trigeminal dimensions of mixed olfactory/trigeminal stimuli are perceived differently in PD patients than patients with NPOD whereas the perception of olfactory dimensions is the same in both groups.

Methods

Study participants

We obtained written informed consent from all participants. All aspects of the study were performed in accordance with the Declaration of Helsinki on biomedical research involving human subjects. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the University of Québec at Trois-Rivières and the local hospital (CIUSSS-MCQ).

(1) We recruited 30 PD patients from the CIUSSS-MCQ or the local PD association (Parkinson Mauricie); all had been diagnosed by a neurologist. We excluded 2 patients (unclear diagnosis; intracranial stimulator), resulting in 28 included PD patients (8 women, 20 men, mean age 68.9). Of them, 24 were on anti-Parkinsonian medication and one did not receive any medication (missing information for 3 patients). Although all these patients had been diagnosed with PD, in a second step we applied UK Parkinson's Disease Society Brain Bank (UKPDSBB) diagnostic criteria based on patients' medical files. Amongst 22 patients for whom complete medical files were available, 20 fulfilled UKPDSBB criteria.

(2) We tested 23 patients with NPOD from our lab's database. Of them, 2 had normal scores at olfactory testing and were excluded resulting in 21 patients with NPOD (8 women, 13 men, mean age 63.8). The probable cause for OD was subjectively evaluated by a questionnaire (according to [16]); sinusal disease (n=8), congenital OD (n=1), post-traumatic OD (n=1); post-infectious OD (n=1); idiopathic OD (n=10).

(3) A total of 30 healthy controls subjects were recruited from the community and among the partners of the PD patients. They were matched in terms of sex and age to the PD patients and were in good general health with a normal sense of smell. We excluded 3 male controls participants for whom olfactory testing indicated reduced olfactory function resulting in 27 control participants (10 women, 17 men, mean age 67.1).

Report to Table 2.1 a, b for patient's characteristics and clinical information.

Table 2-1. A. Characteristics of study population and main results

Variable	Controls (n = 27)	PD patients (n = 28)	NPOD patients (n = 23)
Sex (F/M)	10;17	8;20	8;13
Age	67.1 ± 5.1	68.9 ± 9.3	63.8 ± 7.4
Female	65.2 ± 6.6	66.4 ± 10.3	64.0 ± 4.0
Male	68.2 ± 4.2	69.9 ± 9.0	63.9 ± 9.2
Age at onset (yrs)*	NA	63.0 ± 10.8	NA
Disease duration (yrs)*	NA	6.5 ± 4.0	NA
Hoehn & Yahr Stade*	NA	2.5 ± 1.1 (1-5)	NA
LEDD (mg)**	NA	614.4 ± 334.3 (0- 1600)	NA
MoCA test	27.6 ± 3.4	24.2 ± 4.1	25.6 ± 3.1
Localization score	30.9 ± 4.5	31.9 ± 3.5	27.9 ± 4.8
TDI score	36.0 ± 3.4	14.5 ± 5.0	15.8 ± 6.2
Threshold	9.1 ± 2.6	1.6 ± 1.3	2.2 ± 1.9
Discrimination	13.2 ± 1.4	7.1 ± 2.6	7.3 ± 2.2
Identification	13.7 ± 1.5	5.8 ± 2.6	6.3 ± 3.5

B. Clinical characteristics of PD patients

Hoehn & Yahr Stade	1 and 1.5	2 and 2.5	3	4 and 5
N. of Patients	6	6	10	3
LEDD median	330.0	707.3	605.6	1099.0

*Data are shown as means and standard deviation. Abbreviations: LEDD= Levodopa equivalent daily dose, MoCA= Montreal cognitive Assessment, TDI = summation of the 3 olfactory subtests Threshold, Discrimination and Identification. * This information is missing for 3 PD patients. *** This information is missing for 7 PD patients.*

Chemosensory testing

We investigated trigeminal sensitivity using the odor localization test using the mixed olfactory/trigeminal stimulus eucalyptol (1,8 cineol, eucalyptus odor: Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, USA). The odor was presented to either one nostril in bottles filed with 20 ml of a 5% dilution of the odorant (diluted in odorless propylene glycol - PG: Sigma-Aldrich); at the same time, an identical bottle filed with 20 ml of PG was presented to the contralateral nostril. Bottles had been adapted so that two tubes were inserted in each bottle cap, one of them was placed in the nostril in a way that the caps sealed the nostril, and the other tube was free [17]. Participants were instructed to take one deep breath, so that the stimulus reaches the nasal mucosa during sniffing [18]. After each stimulation, participants were asked to identify the nostril to which the eucalyptol was presented. A total of 40 pseudo-randomized trials (counterbalanced for side) were applied at an interval of 40 seconds. We counted the correct identification as an estimation of trigeminal sensitivity.

We assessed olfactory function using the “Sniffin’ Sticks” test kit [19], where odorants are presented in felt tips pens (Burghart, Wedel, Germany). Details of the test are described elsewhere [19]. It includes 3 individual subtests: phenylethanol (PEA) odor threshold, odor discrimination, and odor identification. Scores for each test range between 0 (lowest sensitivity) to 16 (highest sensitivity). As it is standard procedure, we obtained a global score of olfactory perception by adding the results of the 3 subtests (TDI score). For this score, normative values are available which allow for the diagnosis of anosmia (TDI score below 16), hyposmia (TDI score between 16 and 31) and normosmia (TDI score above 31) [19].

Perceptual ratings of odors

We exposed participants to a total of 8 odorants, namely PEA (rose: Sigma-Aldrich), lemon oil (lemon: Sigma-Aldrich), allyl thio-iso cyanate (mustard oil: Sigma-Aldrich), triethylamine (fish: Novotaste, Brossard, Qc, CA), furfuryl (skunk: Novotaste), ethyl butyrate (pineapple: Sigma-Aldrich), L-carvone (spearmint: Sigma-Aldrich), cinnamaldehyde (cinnamon: Sigma-Aldrich). These odorants cover the range from weak trigeminal stimulation (e.g., rose) to strong trigeminal stimulation (e.g., mustard oil) and from pleasant (e.g., pineapple) to very unpleasant (e.g., skunk). Participants used visual analog scales to evaluate the odorants

with regards to 7 dimensions (three olfactory: pleasantness, edibility, familiarity; three trigeminal: warmth, coolness, piquancy; one general: intensity) [20].

Statistics

We used SPSS 23 for our statistical analysis and compared chemosensory sensitivity between the three groups by computing repeated measures ANOVA, with group (3 levels: PD, NPOD, control) as between subject factor and test (2 levels: trigeminal localization score and olfactory TDI score) as within subject variable. Then, we computed univariate ANOVA analyses for each variable with post-hoc group comparisons. Next, we computed Receiver Operating Characteristics (ROC) curves in order to assess the efficiency of the localization task to discriminate between PD patients and patients with NPOD. The curves represent the true positive rate (sensitivity) in function of the false positive rate (1- specificity), the area under the curve (AUC) depicts how efficient the diagnostic tool is: the nearest to 1, the better. We calculated the Youden index ($y = \text{sensitivity} + \text{specificity} - 1$) for each value, the value with the greatest index correspond to a cut-off value; i.e., a score at the localization task that is equal or higher than this value would indicate that the patient suffers from PD, while a score lower would indicate OD unrelated to PD. For the analysis of the perceptual rating (non-normal data) we performed Mann-Whitney U-tests for independent sample comparisons. Multiple comparisons were Bonferroni corrected, unless otherwise stated, the alpha value was 0.05.

Results

Participants

All PD patients and NPOD patients had olfactory scores below normative values. In fact, 19 and 9 (12 and 9) individuals in the PD group (NPOD group) exhibited anosmia and hyposmia, respectively.

Chemosensory performance

The ANOVA revealed a significant interaction between *group* and *test* ($F(2,73) = 112.84$; $p < 0.001$) and significant main effects of *group* ($F(2,73) = 86.99$; $p < 0.001$) and *test* ($F(1,73) = 149.94$; $p < 0.001$). In order to disentangle the effects, we computed separate ANOVA for both tests.

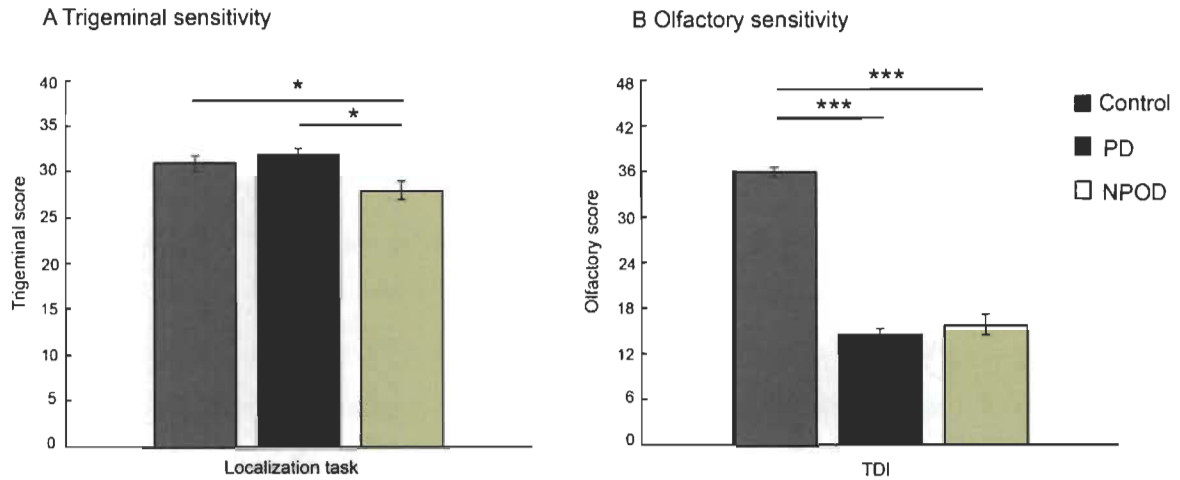
First, we compared trigeminal function (localization score) between the 3 groups, revealing a significant effect of *group* ($F(2,70) = 5.72$; $p = 0.005$). Post-hoc t-tests showed that both the control group ($p = 0.046$) and the PD group ($p = 0.002$) performed significantly better than the NPOD group. There were no statistical differences between the control group and the PD group. Next, we repeated the analysis for olfactory function (TDI score). Again, we observed a significant main effect of *group* ($F(2,70) = 158.48$; $p < 0.001$). In contrast to the finding on trigeminal function, the control group performed significantly better than both the PD group and the NPOD group (both $p < 0.001$), and there was no difference between the PD and NPOD groups. (Fig. 2.1) When including only those 20 patients with a revised PD diagnosis according to UKPDSBB criteria, the analysis still revealed a significant group difference for the localization task between patients with PD and NPOD ($F(2,64) = 81.8$; $p = 0.014$).

ROC curves showed that the AUC was 0.769 for the localization task compared to 0.454 for the TDI-Score. The cut-off value that was identified by the greatest Youden index (0,464) is a score of 30,5 at the localization task. The accuracy of the localization test is 71.1%. (Fig. 2.2)

Perceptual ratings

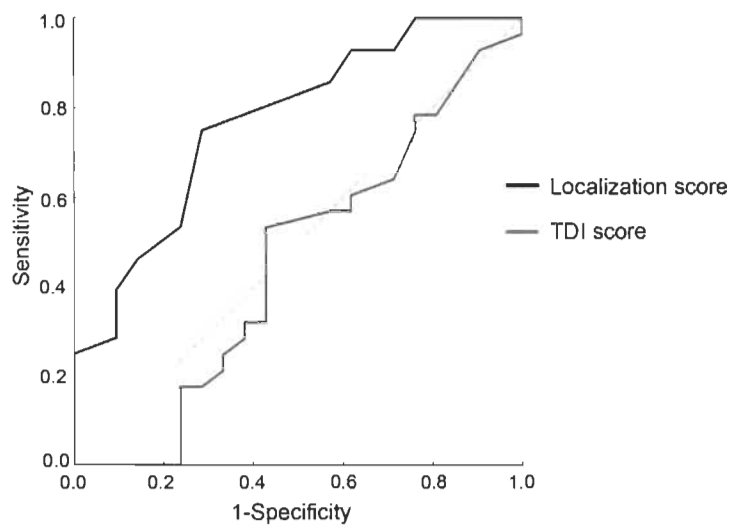
We compared perceptual ratings between NPOD and PD. Neither for the olfactory dimensions, nor for the trigeminal dimensions there was any significant difference between both patient groups after correction for multiple comparison (before such correction, 3 comparisons were significant: mustard oil pleasantness ($p = 0.007$), mustard oil piquancy ($p = 0.016$), and pineapple odor coolness ($p = 0.021$)). When compared to the control group, the rating of odor was significantly reduced in PD and NPOD for all the dimensions and the odors. (Fig. 2.3)

Figure 2-1. Olfactory and trigeminal sensitivity



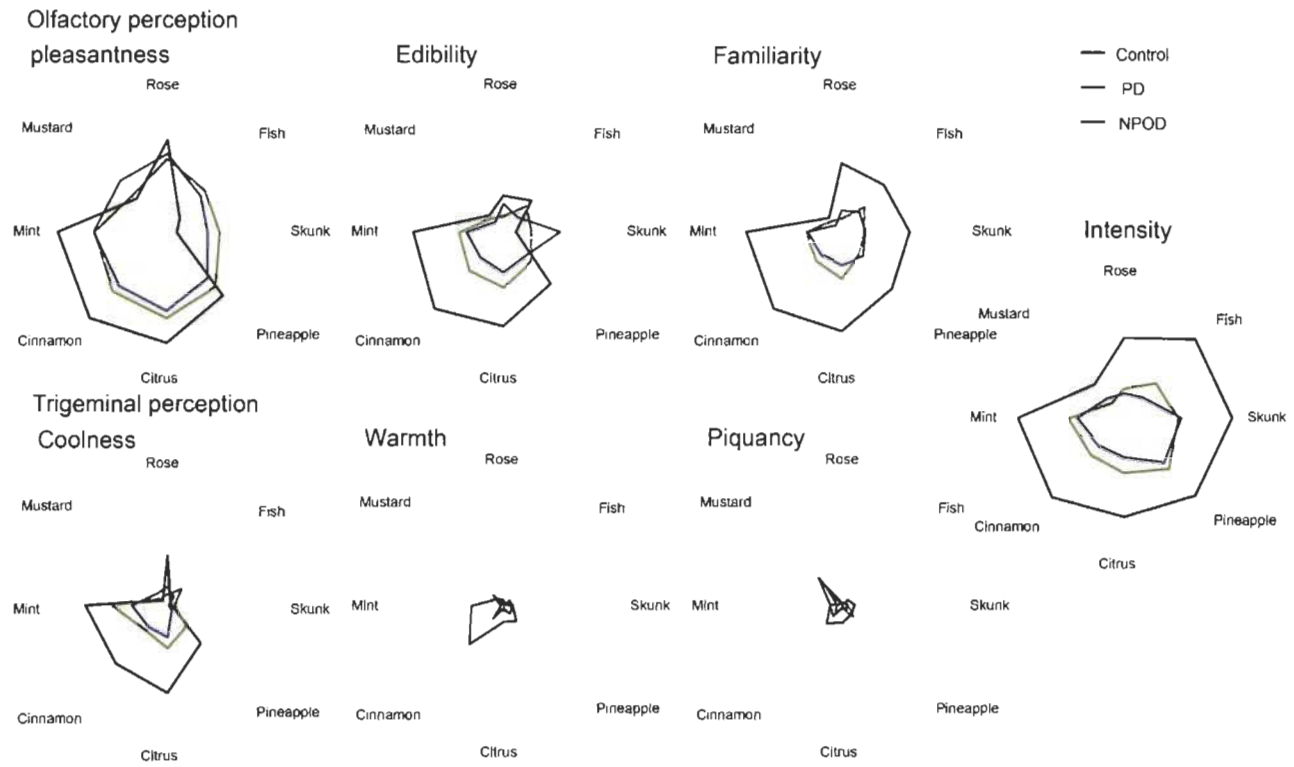
Mean ratings of the trigeminal localization score out of 40 for controls, PD patients, NPOD patients. B) Mean ratings of the olfactory TDI score (summation of threshold, discrimination and identification task of the Sniffin' Stick test) for controls, PD patients, NPOD patients. Error bars represents the standard error of the mean.

Figure 2-2. Accuracy of the localization task



Receiver Operating Characteristics (ROC) curves for the localization score as compared to the olfactory TDI-score to discriminate between PD patients and NPOD patients.

Figure 2-3. Perceptual ratings of odors



Mean ratings of the scores on olfactory dimensions (pleasantness, edibility, familiarity) and trigeminal dimensions (warmth, coolness, piquancy) and a mixed dimension (intensity) for the 8 odors for controls, PD patients and NPOD patients.

Discussion

The purpose of this study was to characterize the olfactory and trigeminal systems in PD patients and to compare them to patients with olfactory dysfunction unrelated to PD and to healthy controls. Our main finding is that the trigeminal system appears to be unimpaired in PD patients as opposed to NPOD patients. Our results seem to show a particular pattern of chemosensory impairment specific to PD, with an impaired olfactory system and a seemingly intact trigeminal system. This provides a potential avenue to differentiate OD associated with PD to OD due to other causes, a crucial issue when trying to use olfactory testing as a screening tool for PD.

We observed reduced trigeminal sensitivity in patients with OD unrelated to PD compared to controls which is in line with previous studies. In fact, psychophysical and electrophysiological studies showed reduced trigeminal sensitivity in NPOD patients when compared with healthy controls [11, 12] and this reduction seems to be independent from the cause of olfactory loss [12], except maybe for congenital anosmia [10]. Interestingly, our results showed that trigeminal sensitivity in PD was not reduced compared to controls and significantly higher than the NPOD group. Our results are in line with another study that investigated the trigeminal system in PD in which patients and controls did not exhibit any difference in event-related potentials after stimulation with CO₂ [13].

We further showed that measuring trigeminal sensitivity can discriminate OD associated or not to PD, using ROC curves. A trigeminal score of 30 is the cutoff for patients with olfactory dysfunction (hyposmia or anosmia) between PD patients and NPOD patients. Although its accuracy is relatively low (71 %), one has to keep in mind that the localization test is a semiquantitative measure and thus not very precise. In the future, methods that could evaluate more precisely and rapidly the trigeminal sensitivity could be developed (e.g., electrophysiological measures, automated threshold measurements) and used for the development of early diagnosis tools for the diagnosis of PD.

In order to understand these results better it is worth having a closer look at the intimate connection between olfactory and trigeminal systems. Indeed, most odorants also stimulate the trigeminal nerve – especially in higher concentrations – and both systems share central nervous processing units [21]. As an explanation to the reduced trigeminal sensitivity in patients with OD, we proposed a model of mixed compensation/adaptation in the interaction between both systems [11]. Specifically, a functional olfactory system is necessary for a complete functionality of the trigeminal system; as a consequence, OD leads to central and peripheral changes affecting the trigeminal response. While this model explains findings in OD caused by other conditions than PD, it does not seem to apply to OD caused by PD. This in turn suggests that the olfactory system in PD is affected in a disease-specific way. Two recent articles support this view: First, EEG derived olfactory event-related potentials exhibit distinguishable patterns between patients with Parkinsonian OD and patients with NPOD. The pattern differences appear to originate from PD specific impairment of brain regions including right angular gyrus, right

parahippocampal gyrus, and right cingulate gyrus [22]. The exact implication of this is however yet to be elucidated. Next, an opinion paper suggested that OD in neurodegenerative diseases such as PD may be the result of a disturbance to cholinergic neurotransmission [23], representing a different pathomechanism than other OD causes. If this holds true, the consequences of this are two-fold: first, a disturbance to the olfactory system which is particular to PD, may render possible the detection of a PD-specific pattern of olfactory impairment (compare [24]). Therefore, future studies should consider including additional olfactory tasks next to the typically tested olfactory identification and threshold tests. Second, a specific neuroanatomical substrate for PD-specific olfactory impairment would exist, which may be detected with appropriate techniques.

Several regions have been proposed as the site of interaction between both sensory systems and may be the origin of the findings: First, in periphery of both sensory systems, at the level of the nasal epithelium, trigeminal and olfactory receptor neurons may interact mutually [25]. Second, trigeminal nerve collaterals ending in the olfactory bulb, as shown in rats, may transfer information between both systems [26]. Third, as even pure trigeminal stimulation leads to activation of olfactory processing areas such as the piriform cortex, orbitofrontal cortex, and rostral insula [27, 28] the interaction may take place in these areas. The findings of the present study suggest that these or other areas may be differentially affected in PD patients compared to NPOD; future studies may use appropriate tools to specifically investigate the integrity and function of these areas, e.g. negative mucosal potential for the nasal epithelium, functional/structural IRM as well as EEG for the central nervous structures.

The evaluation of odorants revealed some surprising findings: in line with the results in olfactory testing, NPOD and PD patients rated olfactory dimensions similarly (low) for the 8 stimuli. With regards to the trigeminal dimensions however, one could have expected that PD patients rate stimuli higher of warmth, coolness, and piquancy compared to NPOD patients. This was not the case, even for the stimuli mustard oil, spearmint, and cinnamon which predominantly stimulate the trigeminal system. This result is in striking contrast with the result on the trigeminal sensitivity, which showed PD patients to exhibit a more sensitive trigeminal system than the NPOD group. Several explanations for this can be put forward: first, it is possible that our approach is not appropriate to disentangle olfactory and trigeminal impacts of

odors. Second, it may be that the concentration used were too weak and consequently the trigeminal impact of the stimuli we used was not strong enough, ratings of controls participants were indeed quite weak. A third possibility may be that PD patients generally give smaller responses in ratings. Indeed, PD patients perceive odors as less intense and closer to neutral in terms of hedonic range [29]. However, future studies may investigate this more closely by exposing participants to suprathreshold concentrations of odorants with a clear trigeminal impact.

This study has some limitations. First, we used an active stimulation paradigm during the localization task, where the odorant reaches the olfactory mucosa during the sniffing process. As opposed to a passive stimulation where odorants are delivered within an air puff blown into the nostril [18], this technique does not allow to control the intensity and duration of the sniff and therefore the total amount of molecules delivered to the nasal mucosa. Although a previous study has shown that passive and active stimulation yield comparable results, the distinction between both methods is interesting in the context of a study which suggested that sniffing as a motor event is affected in PD patients [30]. However, one would then expect that PD patients to have lower scores than controls rather than having normal results in the localization task. Second, some patients with PD and NPOD had MoCA scores indicative of mild cognitive impairment. Nevertheless, since there was no statistical difference with regards to this between both patient groups, we did not exclude participants based on this test and expect this variable to have only a minor impact if any at all. Third, we are not able to exclude the possible presence of concurrent non-parkinsonian OD in patients with PD and, conversely, that some of the cases of idiopathic forms of OD are not actually an early sign of PD. This should be addressed in future studies with a longitudinal design.

In conclusion, our study showed that trigeminal sensitivity does not seem to be impaired in PD patients in contrast to other OD. We suggest that the measurement of trigeminal sensitivity could be the key to differentiate PD from other forms of OD.

Conflict of interest

None.

Acknowledgements

This work was supported by grants from the Parkinson Society of Canada (2017-1120) and CIUSSS-MCQ – UQTR. JF is a FRQS (Fonds de Recherche du Québec - Santé) scholar (#32618) and holds the UQTR Research Chair in Chemosensory Neuroanatomy. CT is supported by the FRQS. We would like to thank all the participants in this study, the association of “Parkinson Mauricie” and “Parkinson Québec”, and the department of Neurology of the CIUSSS-MCQ.

References

- [1] L.V. Kalia, A.E. Lang, Parkinson's disease, *Lancet* 386 (9996) (2015) 896e912. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61393e3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61393e3).
- [2] H. Braak, K. Del Tredici, U. Rub, R.A. de Vos, E.N. Jansen Steur, E. Braak, Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease, *Neurobiol. Aging* 24 (2) (2003) 197e211.
- [3] A. Haehner, S. Boesveldt, H.W. Berendse, A. Mackay-Sim, J. Fleischmann, P.A. Silburn, A.N. Johnston, G.D. Mellick, B. Herting, H. Reichmann, T. Hummel, Prevalence of smell loss in Parkinson's disease: a multicenter study, *Park. Relat. Disord.* 15 (7) (2009) 490e494. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2008.12.005>.
- [4] R.L. Doty, Olfactory dysfunction in Parkinson disease, *Nat. Rev. Neurol.* 8 (6) (2012) 329e339. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2012.80>.
- [5] G.W. Ross, H. Petrovitch, R.D. Abbott, C.M. Tanner, J. Popper, K. Masaki, L. Launer, L.R. White, Association of olfactory dysfunction with risk for future Parkinson's disease, *Ann. Neurol.* 63 (2) (2008) 167e173. <https://doi.org/10.1002/ana.21291>.
- [6] A. Haehner, T. Hummel, H. Reichmann, A clinical approach towards smell loss in Parkinson's disease, *J. Park. Dis.* 4 (2) (2014) 189e195. <https://doi.org/10.3233/jpd-130278>.
- [7] D. Berg, R.B. Postuma, C.H. Adler, B.R. Bloem, P. Chan, B. Dubois, T. Gasser, C.G. Goetz, G. Halliday, L. Joseph, A.E. Lang, I. Liepelt-Scarfone, I. Litvan, K. Marek, J. Obeso, W. Oertel, C.W. Olanow, W. Poewe, M. Stern, G. Deuschl, MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease, *Mov. Dis.* 30 (12) (2015). <https://doi.org/10.1002/mds.26431>.
- [8] B.N. Landis, C.G. Konnerth, T. Hummel, A study on the frequency of olfactory dysfunction, *Laryngoscope* 114 (10) (2004) 1764e1769. <https://doi.org/10.1097/00005537-200410000-00017>.
- [9] R.L. Doty, Clinical studies of olfaction, *Chem. Senses* 30 (suppl_1) (2005) i207ei209. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjh187>.

- [10] J. Frasnelli, B. Schuster, T. Zahnert, T. Hummel, Chemosensory specific reduction of trigeminal sensitivity in subjects with olfactory dysfunction, *Neuroscience* 142 (2) (2006) 541e546. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.06.005>.
- [11] J. Frasnelli, B. Schuster, T. Hummel, Interactions between olfaction and the trigeminal system: what can be learned from olfactory loss, *Cereb. Cortex* 17 (10) (2007) 2268e2275. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhl135>.
- [12] T. Hummel, T. Futschik, J. Frasnelli, K.B. Huttenbrink, Effects of olfactory function, age, and gender on trigeminally mediated sensations: a study based on the lateralization of chemosensory stimuli, *Toxicol. Lett.* (2003) 273e280, 140-141.
- [13] S. Barz, T. Hummel, E. Pauli, M. Majer, C.J. Lang, G. Kobal, Chemosensory event-related potentials in response to trigeminal and olfactory stimulation in idiopathic Parkinson's disease, *Neurology* 49 (5) (1997) 1424e1431.
- [14] G. Kobal, S. Van Toller, T. Hummel, Is there directional smelling? *Experientia* 45 (2) (1989) 130e132.
- [15] I. Croy, M. Schulz, A. Blumrich, C. Hummel, J. Gerber, T. Hummel, Human olfactory lateralization requires trigeminal activation, *Neuroimage* 98 (2014) 289e295. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.05.004>.
- [16] T. Hummel, K. Whitcroft, P. Andrews, A. Altundag, C. Cinghi, R. Costanzo, M. Damm, J. Frasnelli, H. Gudziol, N. Gupta, Position paper on olfactory dysfunction, *Rhinology* 54 (Suppl_26) (2017 Jun 17). <https://doi.org/10.4193/Rhin16.248>.
- [17] C.J. Wysocki, B.J. Cowart, T. Radil, Nasal trigeminal chemosensitivity across the adult life span, *Percept. Psychophys.* 65 (1) (2003) 115e122.
- [18] J. Frasnelli, G. Charbonneau, O. Collignon, F. Lepore, Odor localization and sniffing, *Chem. Senses* 34 (2) (2009) 139e144. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjn068>.
- [19] T. Hummel, G. Kobal, H. Gudziol, A. Mackay-Sim, Normative data for the “Sniffin’ Sticks” including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an upgrade based on a group of more than 3,000 subjects, *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 264 (3) (2007) 237e243. <https://doi.org/10.1007/s00405-006-0173-0>.
- [20] R.P. Filiou, F. Lepore, B. Bryant, J.N. Lundstrom, J. Frasnelli, Perception of trigeminal mixtures, *Chem. Senses* 40 (1) (2015) 61e69. <https://doi.org/10.1093/chemse/bju064>.
- [21] J.A. Boyle, J. Frasnelli, J. Gerber, M. Heinke, T. Hummel, Cross-modal integration of intranasal stimuli: a functional magnetic resonance imaging study, *Neuroscience* 149 (1) (2007) 223e231. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.06.045>.

- [22] E. Iannilli, L. Stephan, T. Hummel, H. Reichmann, A. Haehner, Olfactory impairment in Parkinson's disease is a consequence of central nervous system decline, *J. Neurol.* 264 (6) (2017) 1236e1246. <https://doi.org/10.1007/s00415-017-8521-0>.
- [23] R.L. Doty, Olfactory dysfunction in neurodegenerative diseases: is there a common pathological substrate? *Lancet Neurol.* 16 (6) (2017) 478e488. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(17\)30123e0](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(17)30123e0).
- [24] S. Rahayel, J. Frasnelli, S. Joubert, The effect of Alzheimer's disease and Parkinson's disease on olfaction: a meta-analysis, *Behav Brain Res* 231 (1) (2012) 60e74. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.02.047>.
- [25] J.F. Bouvet, J.C. Delaleu, A. Holley, Olfactory receptor cell function is affected by trigeminal nerve activity, *Neurosci. Lett.* 77 (2) (1987) 181e186.
- [26] M.L. Schaefer, B. Bottger, W.L. Silver, T.E. Finger, Trigeminal collaterals in the nasal epithelium and olfactory bulb: a potential route for direct modulation of olfactory information by trigeminal stimuli, *J. Comp. Neurol.* 444 (3) (2002) 221e226. <https://doi.org/10.1002/cne.10143>.
- [27] J.A. Boyle, M. Heinke, J. Gerber, J. Frasnelli, T. Hummel, Cerebral activation to intranasal chemosensory trigeminal stimulation, *Chem. Senses* 32 (4) (2007) 343e353. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjm004>.
- [28] T. Hummel, E. Iannilli, J. Frasnelli, J. Boyle, J. Gerber, Central processing of trigeminal activation in humans, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1170 (2009) 190e195. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.03910.x>.
- [29] A. Mrochen, F. Marxreiter, Z. Kohl, J. Schlachetzki, B. Renner, T. Schenk, J. Winkler, J. Klucken, From sweet to sweat: hedonic olfactory range is impaired in Parkinson's disease, *Park. Relat. Disord.* 22 (2016) 9e14. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2015.09.035>.
- [30] N. Sobel, M.E. Thomason, I. Stappen, C.M. Tanner, J.W. Tetrud, J.M. Bower, E.V. Sullivan, J.D. Gabrieli, An impairment in sniffing contributes to the olfactory impairment in Parkinson's disease, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98 (7) (2001) 4154e4159. <https://doi.org/10.1073/pnas.071061598>.

Chapitre 3. Article 2 – Chemosensory perception is specifically impaired in Parkinson's disease.

Cécilia Tremblay¹, Pascali Durand-Martel², Johannes Frasnelli^{1,3}

Publié dans le journal *Parkinsonism & Related Disorders*, (Tremblay *et al.*, 2018)

Tremblay C, Durand Martel P, Frasnelli J (2018) Chemosensory perception is specifically impaired in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 57, 68-71. Doi :<https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2018.08.002>.

Affiliations:

1. Department of Anatomy, Université du Québec à Trois-Rivières (UQTR), 3351 Boulevard des Forges, Trois-Rivières, G9A 5H7, Québec, Canada

2. Department of Neurology, Centre Intégré Universitaire de Santé et de Services Sociaux de la Mauricie-et-du-Centre-du-Québec (CIUSSS-MCQ), 1991 boulevard du Carmel, Trois-Rivières, G8Z 3R9, Québec, Canada

3. Research Center, Hôpital du Sacré-Coeur, 5400 boulevard Gouin Ouest, Montréal, H4J 1C5, Québec, Canada

Contribution des auteurs

J'ai développé le protocole de recherche avec mon directeur de thèse J. Frasnelli. J'ai été responsable du recrutement et de la collecte de données. J'ai réalisé les analyses statistiques avec l'aide de J. Frasnelli. J'ai effectué la rédaction du manuscrit avec J. Frasnelli. La Dre Durand-Martel a effectué la validation du diagnostic et la collecte des données cliniques des patients avec la MP ainsi que la révision de la version finale du manuscrit.

Mise en contexte

L'étude présentée dans ce deuxième article, qui est publié sous forme de communication brève, est une suite directe des résultats présentés dans le premier article. Notre objectif y était d'évaluer spécifiquement la perception trigéminal en contraste à la perception

olfactive de différents stimuli, chez des patients atteints de la MP en comparaison avec des contrôles. Il s'agit de la première étude s'intéressant spécifiquement à la perception trigéminal dans la MP. Cette étude reproduit toutefois une partie de la première étude présentée puisque nous y avons déjà évalué la perception trigéminal. Nous avons toutefois précisé notre méthodologie en sélectionnant des odeurs avec un impact trigéminal fort en contraste avec des odeurs principalement olfactives ainsi qu'en utilisant des concentrations plus élevées et appropriées pour des participants plus âgés.

Abstract

Patients with Parkinson's Disease (PD) exhibit a considerably diminished sense of smell. The olfactory system is also intimately connected to the trigeminal system, responsible for the perception of sensations such as freshness, warmth or piquancy in odorants. Usually, olfactory impairment is associated with a similar reduction of trigeminal sensitivity. A recent study suggests that the trigeminal system is not affected in patients with PD. To test this, we evaluated perception of mixed olfactory/trigeminal stimuli in 23 patients with idiopathic PD and compared them to 22 healthy matched controls. More specifically, we evaluated the trigeminal dimensions of coolness, warmth and piquancy and the olfactory dimensions of pleasantness, familiarity and edibility of 10 mixed olfactory/trigeminal odorants using Likert scale. We show that PD patients perceive trigeminal sensations of coolness, warmth, and piquancy of odorants equally well as controls, as opposed to olfactory dimensions that are perceived significantly less compared to controls ($p < 0.001$). Moreover, Chi-square Tests show that equal number of participants in both groups perceive the trigeminal dimensions of odorants. Thus, we provide further evidence that the trigeminal system, as opposed to the olfactory system, is not impaired in PD patients reflecting a specific pattern of chemosensory impairment in PD.

Introduction

Olfactory dysfunction (OD) is a highly reliable non-motor symptom of Parkinson's disease (PD) present in up to 90–96% of PD patients [1]. Olfactory impairment appears up to 20 years before the diagnosis of the disease. Therefore, OD is now recognized as supportive diagnostic criteria [1,2] and may be a prime candidate for early screening. However, OD has a

low predictive value to diagnose PD and studies still need to better characterize a specific pattern of PD-related olfactory loss.

The olfactory system is intimately connected to the trigeminal chemosensory system, which allows for the perception of sensations such as freshness, warmth, burning, stinging, or tickling from odorous stimuli [3]. Trigeminal perception is possible via specific interaction of stimuli with chemoreceptors located on the trigeminal nerve. Even though the trigeminal system is independent from olfaction, both systems are usually activated together and interact closely as they share central processing areas. In fact, almost all odorants also stimulate the trigeminal nerve, especially in higher concentrations. Therefore, in addition to the perceived olfactory dimensions of an odorant, one also perceives trigeminal components of the same odorant (e.g., the freshness of peppermint).

Evidence seems to show that the trigeminal system is not impaired in patients with PD [4,5]. This is interesting since we would expect both olfactory and trigeminal systems to be impaired in the same way considering their close relationship. For instance, trigeminal sensitivity is typically reduced in patients with other forms of OD [6]. Taken together, an impaired olfactory system and intact trigeminal system could lead to crucial early screening tools for PD patients.

However, perception of trigeminal stimuli remains poorly studied in PD. With the exception of our own work in which we did not find any group differences by using weak trigeminal stimuli [5], there is yet no study which looked specifically at the trigeminal perception in PD patients.

The aim of this study was to characterize the trigeminal perception of mixed olfactory/trigeminal stimuli, i.e., odorants which activate both the olfactory and the trigeminal nerves, in PD-related olfactory loss and compare them to healthy controls. More precisely, we asked participants to evaluate odorants on olfactory dimensions (pleasantness, edibility, familiarity [7]), trigeminal dimensions (coolness, warmth, piquancy [3]) and a general dimension of intensity, for a set of odorants. We hypothesized olfactory, but not trigeminal dimensions, to be impaired in PD patients compared to controls.

Methods

All aspects of the study were performed in accordance with the Declaration of Helsinki on biomedical research involving human subjects. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the University of Québec at Trois-Rivières and the local hospital. We obtained written informed consent from all participants prior to the study.

We recruited 23 PD patients from the local hospital or PD association. All patients were diagnosed by a neurologist according to the UK Parkinson's Disease Society Brain Bank (UKPDSBB) diagnostic criteria. 21 patients were on anti-Parkinsonian medication. We compared them to 23 healthy controls matched in terms of sex and age, who were in good general health with a normal sense of smell. We conducted the analysis with 22 controls since 1 participant dropped out. In both groups, known olfactory dysfunction due to sinusal disease, ENT surgery, head trauma, or viral infection was an exclusion criterion. All participants were non-smokers. Report to Table 3.1 for participants characteristics.

We assessed olfactory function using the odor identification task of the Sniffin' Sticks test kit (Burghart, Germany). Participants had to name 16 common odorants with the help of 4 descriptors per odorant. All of the control participants reached the required score of 11/16 in the identification test (results presented in Table 3.1).

Table 3-1. Characteristics of the study population

Variable	Controls (n=22)	PD patients (n=23)
Sex (F/M)	7;15	8;15
Age	69.7 ± 4.9	68.4 ± 9.0
Female	69.1 ± 4.3	68.5 ± 10.7
Male	68.3 ± 7.0	68.7 ± 8.8
Age at onset (yrs)	NA	62.9 ± 10.4
Disease duration (yrs)	NA	5.7 ± 4.2
Hoehn & Yahr Stade*	NA	2.0 ± 1.0 (1-4)
Nb of patients/ Stade H&R	NA	10(1), 2(2), 9(3), 1(4)
LEDD (mg)	NA	602.5 ± 358.7 (0- 1600)
Identification score	13.7 ± 1.3	5.7 ± 2.4

*Data are shown as means and standard deviation. Abbreviations: LEDD= Levodopa equivalent daily dose * This information is missing for 1 PD patient.*

To evaluate odorant perception, we exposed participants to a total of 10 odorants, namely vanillin (25%; for all odorants, odorless propylene glycol served as solvent; all chemicals from Sigma-Aldrich, USA, unless stated otherwise), PEA (10%), parmesan cheese (powder; FoodArom, Canada), isovaleric acid (2%), cinnamaldehyde (95%), eucalyptol (99%), acetic acid (25%), coolact P (100%; Takasago, UK), allyl thio-iso cyanate (0.5%), eugenol (99%). We selected these odorants to stimulate different trigeminal receptors and cover a wide range from strong trigeminal stimulation (e.g., mustard oil, eucalyptol) to minimal or absent trigeminal stimulation (e.g., vanillin, PEA). We also made sure that some of the selected odorants were more familiar, pleasant or unpleasant, and edible or inedible than others [7]. Odorants were presented at concentrations well above olfactory thresholds in order to elicit trigeminal sensations, which are known to only occur at higher concentrations. 20 ml of each odorant were presented in opaque small jars (opening diameter of 4 cm) to mask any visual cues as to identity. Participants were instructed to smell the odorants as many times as they wished, and they were not restricted in time to rate the odorants. Between each odorant participant had to wait 40 s to avoid sensory adaptation.

Participants were instructed to evaluate odorants on 7 separate Likert scales graded from 0 to 10, one for each dimension (as previously described [3]). For intensity, the scale ranged from no smell at all to a very intense smell. For olfactory dimensions, scales ranged from very unpleasant to very pleasant, not edible to very edible, and from not at all familiar to very familiar. For trigeminal dimensions, scales ranged from no coolness to intense coolness, no warmth to intense warmth, no piquancy to intense piquancy. We used the raw scores for each dimension, with the exception of the pleasantness rating. For pleasantness we measured the absolute difference from neutral (value of 5) and multiplied this by 2, in order to obtain values ranging from 0 to 10 (e.g., raw score 8: transformed value 6; raw score: 1; transformed value: 8).

Statistical analysis was performed using SPSS 23.0. First, we performed t-tests for a group comparison of the results of the odor identification task. To analyze ratings, we computed repeated measures (rm) ANOVA with *group* (2 levels: PD, control) as between subject factor and *odorants* (10 levels: 10 odorants), *sensory system* (2 levels: olfactory, trigeminal) with *dimensions* (nested within sensory system: 3 levels: olfactory: pleasantness, edibility,

familiarity; trigeminal: coolness, warmth, piquancy), as within subject variables. To disentangle interactions detected by this first ANOVA, we computed subsequent rm ANOVAs. We applied Bonferroni corrections for multiple comparisons and set the alpha value at 0.05.

Since there was a considerable number of participants who scored 0 for the trigeminal dimensions, especially for the relatively pure odorant (vanillin, PEA, parmesan cheese, isovaleric acid). We therefore carried out an additional analysis and computed Chi-Square tests to compare the number of participant between groups that perceived any of the trigeminal dimensions (rating of at least 1) for all the odorants known to elicit trigeminal sensations (cinnamaldehyde, eucalyptol, acetic acid, Coolact P, mustard oil, eugenol).

Table 3-2. List of odorants, concentrations used and manufacturer

Odor	Concentrations	Manufacturer
Vanillin	25% diluted in PG	Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, USA
Phenyl ethanol	10% diluted in PG	Sigma-Aldrich
Rose odor		
Parmesan cheese	Powder (not diluted)	Foodarom, Montréal, Qc, Canada
Isovaleric Acid	2% diluted in PG	Novotaste, Brossard, Qc, Canada
Cinnamaldehyde	95% (not diluted)	Sigma-Aldrich
Cinnamon odor		
Eucalyptol	99% (not diluted)	Sigma-Aldrich
Eucalyptus odor		
Acetic acid	25% diluted in PG	Sigma-Aldrich
Vinegar		
Coolact P	100% (not diluted)	Takasago, Paris, France
Allyl thio-iso cyanate	0.5% diluted in MO	Sigma-Aldrich
Mustard oil		
Eugenol	99% (not diluted)	Sigma-Aldrich
Cloves odor		

Abbreviations: PG: propylene glycol, MO: Mineral oil

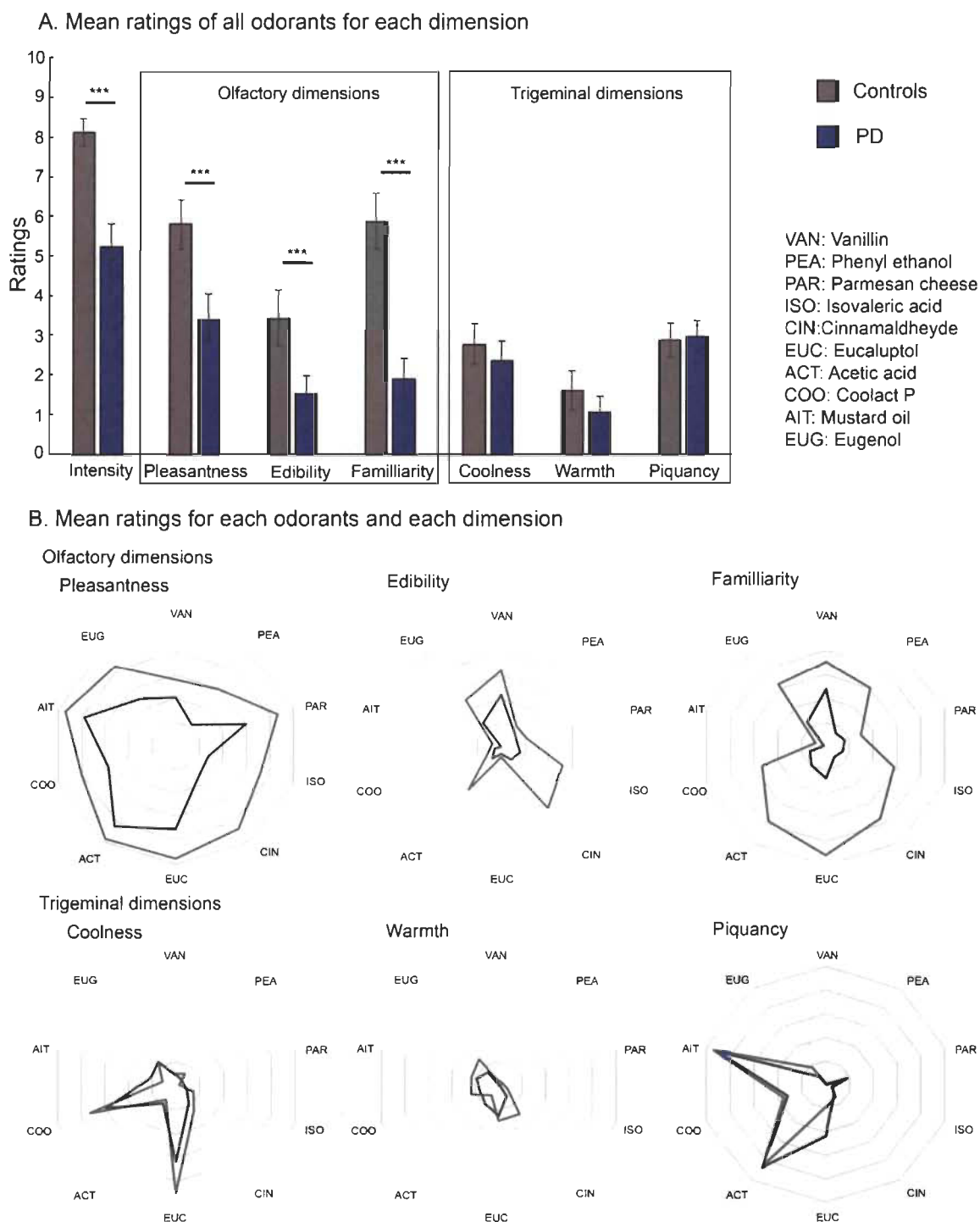
Results

PD patients had significantly lower odor identification score than controls ($p < 0.001$). The ANOVA revealed a significant effect of *group* ($F(1,43) = 28.607$; $p < 0.001$), *sensory system* ($F(1,43) = 55.594$; $p < 0.001$), *dimension* ($F(2,88) = 25.944$; $p < 0.001$) and *odorants* ($F(9,387) = 21.795$; $p < 0.001$). There was also a significant interaction between *group* and *dimension* ($F(6,258) = 23.828$; $p < 0.001$), *group* and *odorants* ($F(9,387) = 3.414$; $p < 0.001$) and *group* and *system* ($F(1,43) = 44.400$; $p < 0.001$).

To better understand these effects, we analyzed the respective dimensions of each sensory system separately. For the olfactory dimensions (pleasantness, edibility, familiarity) there was still an effect of *group* ($F(1,43) = 60.921$; $p < 0.001$) and an interaction between *dimension* and *group* ($F(2,86) = 11.098$; $p < 0.001$). Olfactory perception was significantly reduced in PD patients for pleasantness ($F(1,43) = 24.987$; $p < 0.001$), edibility: ($F(1,43) = 21.799$; $p < 0.001$) and familiarity: ($F(1,43) = 64.974$; $p < 0.001$). For trigeminal dimensions (coolness, warmth, piquancy) there was no effect of *group* ($F(1,43) = 0.822$; $p = 0.370$) and no interaction between *dimension* and *group* ($F(2,86) = 1.386$; $p = 0.256$). Therefore, no differences between PD and control could be found with regards to all 3 trigeminal dimensions. Moreover, intensity ratings were significantly reduced in PD patients ($F(1,43) = 38.822$; $p < 0.001$). See Fig. 3.1.

Chi-square results showed that equivalent number of participants in both groups perceived the trigeminal dimensions of coolness ($\chi^2 = 1.674$, $p = 0.195$), warmth ($\chi^2 = 3.204$, $p = 0.073$) and piquancy ($\chi^2 = 1.352$, $p = 0.245$).

Figure 3-1. Perceptual rating of odorants.



A. Mean ratings of all 10 odorants together for each dimension for PD patients (blue) and healthy controls (gray). Error bars signify the standard error of the mean. B. Mean ratings of each odorant for olfactory and trigeminal dimensions.

Discussion

We describe the results of a study on the perception of olfactory and trigeminal dimensions of 10 odorants in patients with PD compared to healthy controls. We found that, while olfactory perception is significantly impaired, trigeminal perception is preserved in PD patients. We first showed that the perception of the olfactory dimensions such as edibility, pleasantness, and familiarity is significantly reduced in PD patients compared to controls, demonstrating impaired olfactory perception in PD. Further, PD patients rated odorants' pleasantness closer to neutral compared to controls, reflecting anhedonia. Our results are in line with earlier research on reduced olfactory function in PD [1], with PD patients exhibiting reduced intensity, pleasantness, edibility, and familiarity ratings [8]. Further, odorant intensity, influenced both by olfactory and trigeminal perception and mainly depending on concentration [3] was significantly decreased in PD compared to controls, as in previous studies [8,9].

In addition to olfactory dimensions, we evaluated the perception arising from stimulation of the intranasal trigeminal system on a wide range of odorants, on the trigeminal dimensions of coolness, warmth, and piquancy. We showed that trigeminal perception was not significantly different in PD compared to controls, regardless of the type of sensation and probably also of the involved trigeminal receptors. These results are concordant with a previous study where we showed that the trigeminal sensitivity is unimpaired in PD patients, by using the lateralization task [5]. This task is based on the fact that localization of an odorous stimulus presented to one nostril is only possible if the stimulus also activates the trigeminal system. Therefore, one can measure the trigeminal sensitivity by counting the number of correct identifications of the stimulated nostril with a trigeminal stimulus. We previously observed that PD patients performed as well as controls in this task; and both groups performed significantly better than patients with OD due to other causes [5]. Further support for an unimpaired trigeminal system in PD comes from a study showing that PD patients and controls did not exhibit any differences in central electrophysiological measures after stimulation with a trigeminal stimulus [4]. Accordingly, the results of our study further support the notion that the trigeminal system is unimpaired in PD patients and strengthens the existence of a PD-specific pattern of chemosensory impairment.

It is not yet clear why the trigeminal system of PD patients would not be impaired as opposed to the well-known impairment of the olfactory system considering the close relationship between these two systems. A previous report has shown that the simultaneous stimulation of the olfactory and trigeminal system leads to higher cortical activation [10], therefore it would make sense that the missing olfactory input would lead to reduced trigeminal sensitivity, as it was previously observed in patients with other forms of olfactory dysfunction [6]. However, PD-related olfactory loss seems to affect the interaction between these two systems in a specific way. As a potential hypothesis to explain this mechanism, the trigeminal system seems to compensate for the missing olfactory input in PD-related OD. It was shown that both systems potentially interact with each other at the level of the nasal mucosa, the olfactory bulb or central regions [10]. Considering that PD-related olfactory loss had been recognized to affect mainly central regions [11], one can speculate that the disease would leave the periphery of the trigeminal system intact explaining unimpaired trigeminal ratings. Future studies should record central and peripheral electrophysiological measurement of the nasal mucosa in response to trigeminal stimuli, in order to provide insight on the affected areas. Second, the fact that PD patients are more sensitive to noxious stimuli than controls and show increased pain sensitivity [12] could also explain the intact trigeminal function in patients. Upcoming studies could look for correlations of trigeminal measurements and pain sensitivity in PD.

The outcomes of this study add one more feature to the characterization of the non-motor symptoms of PD, which is of particular interest when trying to portray the early phase of PD, towards the possibility to test potential therapeutic interventions earlier. Since OD is an early feature of PD, it would be interesting to assess the trigeminal system in the early stages of PD. We also believe it is worth to systematically test the trigeminal system along with the olfactory system in future studies. It could also be interesting to perform direct comparisons between PD patients and other forms of olfactory dysfunction.

In conclusion, we showed that PD patients perceive trigeminal dimensions of odorants as well as controls, in contrast to olfactory perception. Thus, we provide further evidence that the trigeminal system is not impaired in PD patients reflecting a PD-specific pattern of chemosensory impairment.

Acknowledgements

This work was supported by grants from Parkinson Canada (2017-1120) and the Lemaire family foundation. JF is a FRQS (Fonds de Recherche du Québec - Santé) scholar (#32618), holds the UQTR Research Chair in Chemosensory Neuroanatomy. CT is supported by the FRQS and Parkinson Québec. We would like to thank all participants, “Parkinson Mauricie” and the Neurology service (CIUSSS-MCQ).

Conflict of interest

None.

References

- [1] A. Haehner, T. Hummel, H. Reichmann, A clinical approach towards smell loss in Parkinson's disease, *J. Parkinson's Dis.* 4 (2) (2014) 189–195 <https://doi.org/10.3233/jpd-130278>.
- [2] H. Braak, K. Del Tredici, U. Rub, R.A. de Vos, E.N. Jansen Steur, E. Braak, Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease, *Neurobiol. Aging* 24 (2) (2003) 197–211.
- [3] R.P. Filiou, F. Lepore, B. Bryant, J.N. Lundstrom, J. Frasnelli, Perception of trigeminal mixtures, *Chem. Senses* 40 (1) (2015) 61–69 <https://doi.org/10.1093/chemse/bju064>.
- [4] S. Barz, T. Hummel, E. Pauli, M. Majer, C.J. Lang, G. Kobal, Chemosensory event-related potentials in response to trigeminal and olfactory stimulation in idiopathic Parkinson's disease, *Neurology* 49 (5) (1997) 1424–1431.
- [5] C. Tremblay, P. Durand Martel, J. Frasnelli, Trigeminal system in Parkinson's disease: a potential avenue to detect Parkinson-specific olfactory dysfunction, *Park. Relat. Disord.* 44 (2017) 85–90 <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2017.09.010>.
- [6] J. Frasnelli, T. Hummel, Interactions between the chemical senses: trigeminal function in patients with olfactory loss, *Int. J. Psychophysiol.* 65 (3) (2007) 177–181 <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2007.03.007>.
- [7] J.P. Royet, O. Koenig, M.C. Gregoire, L. Cinotti, F. Lavenne, D. Le Bars, et al., Functional anatomy of perceptual and semantic processing for odors, *J. Cognit. Neurosci.* 11 (1) (1999) 94–109.
- [8] J. Hudry, S. Thobois, E. Broussolle, P. Adeleine, J.P. Royet, Evidence for deficiencies in perceptual and semantic olfactory processes in Parkinson's disease, *Chem. Senses* 28 (6) (2003) 537–543.

- [9] R.L. Doty, E. Beals, A. Osman, J. Dubroff, I. Chung, F.E. Leon-Sarmiento, et al., Suprathreshold odor intensity perception in early-stage Parkinson's disease, *Mov. Disord.* 29 (9) (2014) 1208–1212 <https://doi.org/10.1002/mds.25946>.
- [10] T. Hummel, E. Iannilli, J. Frasnelli, J. Boyle, J. Gerber, Central processing of trigeminal activation in humans, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1170 (2009) 190–195 <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.03910.x>.
- [11] T. Hummel, M. Witt, H. Reichmann, A. Welge-Luessen, A. Haehner, Immunohistochemical, volumetric, and functional neuroimaging studies in patients with idiopathic Parkinson's disease, *J. Neurol. Sci.* 289 (1–2) (2010) 119–122 <https://doi.org/10.1016/j.jns.2009.08.026>.
- [12] S. Sung, N. Vijiaratnam, D.W.C. Chan, M. Farrell, A.H. Evans, Pain sensitivity in Parkinson's disease: systematic review and meta-analysis, *Park. Relat. Disord.* 48 (2018) 17–27 <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2017.12.031>.

Chapitre 4. Article 3 – Olfactory and trigeminal systems interact in the periphery.

Cécilia Tremblay¹, Johannes Frasnelli^{1,2}

Publié dans le journal *Chemical Senses*, (Tremblay et Frasnelli, 2018)

Tremblay C, Frasnelli J (2018) Olfactory and Trigeminal Systems Interact in the Periphery. *Chem Senses* 43, 611-616. Doi : <https://doi.org/10.1093/chemse/bjy049>

Affiliations :

1. Department of Anatomy, Université du Québec à Trois-Rivières, 3351 Boul. des Forges, Trois-Rivières, G9A 5H7, Québec, Canada

2. Research Center, Sacré-Coeur Hospital of Montreal, 5400 boul. Gouin Ouest, Montréal, H4J 1C5, Québec, Canada

Contribution des auteurs

La conception de l'étude et le développement du protocole de recherche ont été réalisés par moi-même et J. Frasnelli. J'ai été responsable de la demande éthique et la supervision de stagiaires qui m'ont aidé avec le recrutement et la collecte de données. J'ai réalisé les analyses statistiques avec l'aide de J. Frasnelli. J'ai rédigé la première version du manuscrit qui a été révisé par J. Frasnelli.

Mise en contexte

Pour donner suite à nos résultats suggérant la présence d'une interaction entre les systèmes olfactif et trigéminal qui serait spécifiquement altérée dans la MP, cette étude a été conçue afin de mieux comprendre cette interaction d'abord dans une population saine avec un odorat dans la normale. Dans cette étude, nous avons donc utilisé le test de latéralisation trigéminal comportemental pour évaluer l'effet d'une stimulation olfactive pure sur la capacité à latéraliser un stimulus trigéminal, lorsque l'odeur est présentée dans la même narine ou dans la narine contralatérale au stimulus trigéminal. Ce paradigme comportemental a l'avantage de

donner de l'information sur le degré et la localisation de l'interaction entre les deux systèmes; il sous-entend qu'une performance plus élevée au test de latéralisation lors d'une co-stimulation dans la même narine indique que les systèmes interagissent en périphérie alors qu'une augmentation de la performance lors d'une co-stimulation dans des narines opposées reflète une interaction centrale.

Abstract

The olfactory and trigeminal systems are intimately connected as most odorants stimulate both sensory systems. They interact by mutually suppressing and enhancing each other. However, the location and the degree of their interaction remain unclear. One method to test sensitivity in the trigeminal system is the odor localization task: when an odorant is presented to one nostril, we are able to localize the stimulated nostril only if the odorant stimulates the trigeminal nerve. Our objective was to evaluate the interaction between olfactory and trigeminal system by measuring the effect of an olfactory co-stimulation on the ability to localize a trigeminal stimulus. More specifically, we evaluated the influence of an olfactory co-stimulation with pure odors (phenylethanol, vanillin), presented either ipsilaterally or contralaterally, on the localization of predominantly trigeminal stimuli (mustard oil, eucalyptol) in 61 healthy participants with a normal sense of smell. The ipsilateral, but not the contralateral, olfactory co-stimulation with a pure odorant increased the capacity to localize a trigeminal stimulus. These results suggest an interaction between the olfactory and trigeminal systems at peripheral, i.e., mucosal, levels.

Introduction

The trigeminal chemosensory system allows the perception of sensations such as freshness, burning, stinging, or tickling from odorous stimuli (Doty et al. 1978; Laska et al. 1997; Frasnelli et al. 2011a). Trigeminal perception is possible from specific interaction of chemicals with trigeminal chemoreceptors, located on the fibers of the trigeminal nerve, cranial nerve V; it is therefore independent from olfactory processing which passes through the activation of the olfactory nerve, cranial nerve I (Friedland and Harteneck 2017). However, almost all odorants also stimulate the trigeminal system in addition to the olfactory system, at

least in higher concentrations, with only few exceptions (Doty et al. 1978). Consequently, the olfactory and trigeminal systems are intimately connected and work closely together in the perception of an odorant.

Interestingly, stimulation with respective stimuli leads to central activation of overlapping brain areas. In fact, the stimulation with a pure trigeminal stimulus, that is, a stimulus which activates the trigeminal system, but not the olfactory system, evokes cerebral activations in somatosensory regions as well as regions of primary olfactory areas such as the piriform cortex and orbitofrontal cortex (Boyle et al. 2007b). As a result, both sensory systems are affected by each other and mutually suppress and enhance each other. For instance, a trigeminal stimulus is perceived as more intense when presented with an olfactory stimulation (Cain and Murphy 1980; Livermore et al. 1992). Inversely, the presence of a trigeminal component in an odorant reduces the perception of its olfactory content (Kobal and Hummel 1988; Hummel et al. 2005). In fact, the simultaneous stimulation with a pure trigeminal stimulus and a pure olfactory stimulus leads to higher cortical activation than the sum of the areas activated by the olfactory stimulus and those by the trigeminal stimulus (Boyle et al. 2007a). Nevertheless, it is still not well understood how the olfactory system influences trigeminal perception as the exact location of the interaction is not yet clear. Different anatomical locations including the nasal mucosa (Bouvet et al. 1987), the olfactory bulb (Schaefer et al. 2002), the mediodorsal thalamus (Inokuchi et al. 1993) or cortical regions responsible for both trigeminal and olfactory processing (e.g., piriform cortex, orbitofrontal cortex, and insula) (Boyle et al. 2007a; Hummel et al. 2009) have been proposed as the site of interaction.

One method to study the trigeminal system is the odor localization task; in this task, participants are asked to identify the stimulated nostril in a monorhinal stimulation paradigm, i.e., when only one nostril is stimulated (Kobal et al. 1989; Hummel et al. 2003; Kleemann et al. 2009). This task is based on the fact that the localization of an odorant is possible only if the odorant also stimulates the trigeminal nerve (Kobal et al. 1989) and therefore allows to dissociate the perceptual contribution of the trigeminal system from the olfactory system. Consequently, humans are able to localize mixed olfactory/trigeminal stimuli; odors which activate both the olfactory and the trigeminal nerves (such as eucalyptol), but not pure odors

which activate exclusively the olfactory nerve (such as vanillin) (Kobal et al. 1989; Frasnelli et al. 2009; Frasnelli et al. 2011a; Croy et al. 2014).

Based on intensity evaluations, previous studies have proposed that this interaction would rather take place in the central nervous system (Cain and Murphy 1980). It is however not yet clear whether the olfactory and trigeminal systems additionally interact in their periphery, that is, on the level of the mucosa. Therefore, to better understand how the olfactory system influences the trigeminal system, we aimed to evaluate the effect of a co-stimulation with a pure odorant, presented either ipsilaterally or contralaterally, on the odor localization task. More precisely we evaluated the influence of olfactory co-stimulation with pure odors (phenylethanol (PEA), vanillin) on the localization of predominantly trigeminal stimulus (mustard oil, eucalyptol). We hypothesized that 1) olfactory co-stimulation with a pure odorant increases the capacity to localize a trigeminal stimulus and 2) ipsilateral co-stimulation has a larger effect than contralateral one.

Material and methods

All aspects of the study were performed in accordance with the Declaration of Helsinki on biomedical research involving human subjects. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the University of Québec at Trois-Rivières. We obtained written informed consent from all participants prior to their inclusion in the study. We recruited 61 (28 men and 33 women) healthy young (18–35, mean age 24.11 ± 4.34) participants. We ascertained normal olfactory function using the identification task of the Sniffin' Sticks test kit (Burghart, Wedel, Germany) (Hummel et al. 2007); in order to be included, participants had to correctly identify at least 11 of 16 odors.

Participants took part in one of two experiments (32 participants took part in the first experiment and 29 participants in the second experiment), for which we followed the same procedure but used different stimuli (report to Table 4.1). We evaluated the trigeminal sensitivity using the odor localization test (Hummel et al. 2003). More specifically, we measured each participant's capacity to localize a mixed olfactory/trigeminal stimulus (Experiment 1: mustard oil; Experiment 2: eucalyptol) and the effect of a concomitant contralateral and ipsilateral stimulation with a pure odorant (Experiment 1: PEA; Experiment 2: vanillin) on their

capacity to localize. As a control condition the participants were also asked to localize the pure odorant. Therefore, each participant was submitted to 4 localization tasks, the order of the condition was pseudo-randomized between participants (see Figure 4.1).

Table 4-1. Odors and concentrations used in each experiment

Experiment 1			Experiment 2	
Trigeminal odor	Allyl thio-iso cyanate Mustard oil odor	0.025%	1,8 cineol, eucalyptol Eucalyptus odor	5 or 10%
Pure odor	Phenylethanol Rose odor	0.5%	Vanillin Vanillin odor	10%
Odorless solvent	Mineral oil		Propylene glycol	

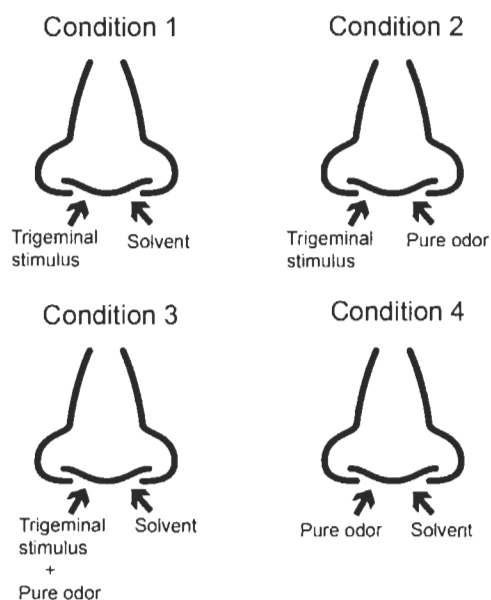
All odors were provided by the manufacturer Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, USA

In the localization task, two identical bottles were presented to the blindfolded participant at the same time, one to each nostril. One of them was containing the target odor, to which the participant had been familiarized. The bottles had been adapted so that two tubes were inserted in each bottle cap, one of them was placed in the nostril in a way that the caps sealed the nostril, and the other tube was free (for detailed description see (Frasnelli et al. 2017) (Wysocky and Wise 2003; Wise et al. 2012). Participants were instructed to take one deep breath, so that the stimulus reached the nasal mucosa during active sniffing (Frasnelli et al. 2009). After each stimulation, participants were asked to identify the nostril to which the target was presented. For each localization task, a total of 40 pseudo-randomized trials (Psycopy (Peirce 2007), counterbalanced for side) were applied at an interval of 40 seconds between each stimulation, to avoid habituation. We counted the correct identification as an estimation of trigeminal sensitivity. The testing was carried out on two sessions on different days; participants were submitted to 2 localization tasks in each session, total testing lasted approximately 2 h.

Statistical analysis was performed using SPSS (IBM SPSS Statistics 23). First, we performed one-sample bilateral t tests to determine if the localization score of each condition was greater than chance level. Then, we computed repeated analysis of variance (ANOVA) to compare the result at the localization task for the four *conditions* (four levels: condition 1: target:

trigeminal stimulus, 2: target: trigeminal stimulus with contralateral olfactory co-stimulation, 3: target: trigeminal stimulus with ipsilateral olfactory co-stimulation, 4: target: pure olfactory stimulus) as within subject variable and *experiment* (two levels: Experiment 1: trigeminal stimulus of mustard oil and odor of PEA, Experiment 2: trigeminal stimulus of eucalyptol and odor of vanillin) as between subject factor. Then, we computed univariate ANOVA for the variable *condition* with *post hoc* group comparisons. We applied Bonferroni corrections for multiple comparisons, unless otherwise stated, and set the alpha value at 0.05.

Figure 4-1. Conditions of the localization task.



Condition 1: stimulation with a mixed trigeminal stimulus in one nostril (target) versus an odorless solvent presented to the contralateral nostril. **Condition 2:** stimulation with a mixed trigeminal stimulus in one nostril (target) versus a pure odorant presented to the contralateral nostril. **Condition 3:** stimulation with a mixed trigeminal stimulus + a pure odorant in the same nostril (target) versus an odorless solvent presented to the contralateral nostril. **Condition 4:** stimulation with a pure odorant in one nostril (target) versus odorless solvent presented to the contralateral nostril.

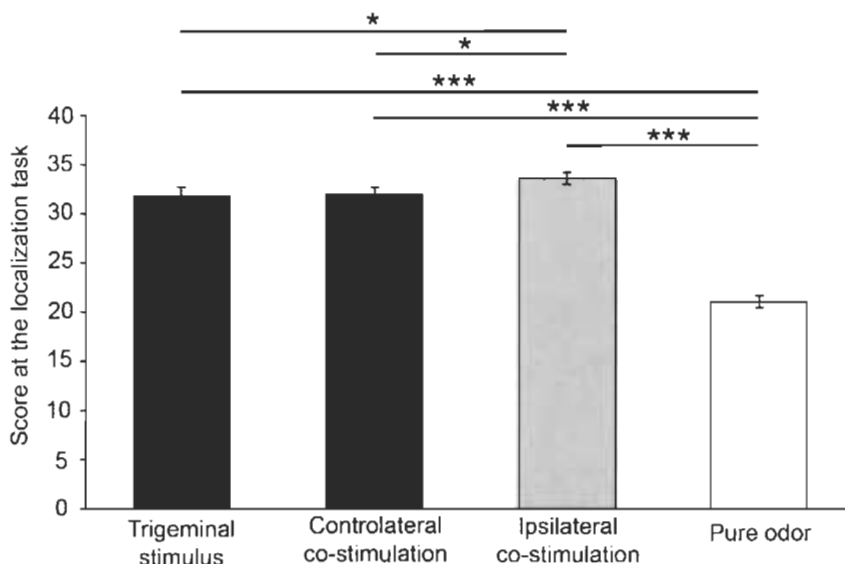
Results

We first analyzed whether participants were able to localize the different stimuli above chance: participants were able to localize the trigeminal stimuli (condition 1), the trigeminal stimulus with contralateral olfactory co-stimulation (condition 2) and the trigeminal stimulus with ipsilateral co-stimulation (condition 3; all $p < 0.001$); but not the pure olfactory stimuli (condition 4; $t = 1.05$, $P = 0.297$) (report to Table 4.2 for the localization scores).

The ANOVA revealed a significant effect of *condition* ($F(3,162) = 103.150$; $p < 0.001$). Subsequent *post hoc* comparisons showed that the stimulation with a pure olfactory stimulus yielded significantly lower results than the three other conditions 1, 2, and 3 ($p < 0.001$ for all). Furthermore, ipsilateral olfactory co-stimulation yielded significantly higher scores than both trigeminal stimulation without olfactory co-stimulation ($p = 0.019$), and trigeminal stimulation with contralateral olfactory co-stimulation ($p = 0.025$), with no difference between these two conditions (see Figure 4.2). We did not observe any effect of experiment (Experiment 1 vs. Experiment 2; $p = 0.495$).

However, there was a significant interaction between *experiment* and *condition* ($F(3,162) = 2.864$; $p = 0.038$). To disentangle this, we analyzed the results of Experiments 1 and 2 separately. For both experiments, the ANOVA revealed an effect of *condition* ($F(3,90) = 40.29$, $p < 0.001$ and $F(3,84) = 41.053$, $p < 0.001$, respectively). Post hoc tests showed that the olfactory stimuli yielded significantly lower scores than the three other conditions ($p < 0.001$ for all), but no significant differences between the three conditions with trigeminal stimuli. The only exception to this was the ipsilateral olfactory co-stimulation in Experiment 1 (mustard oil with PEA) which yielded higher scores than the stimulation with the trigeminal stimulus (mustard oil) alone ($p = 0.048$). However, this was not significant after correction for multiple comparisons.

Figure 4-2. Localization task.



Mean ratings of the localization task for the two experiments together, for the 4 conditions; 1: Trigeminal stimulation, 2: Contralateral co-stimulation, 3: Ipsilateral co-stimulation, and 4: Pure olfactory stimulation. Error bars signify the standard error of the mean.

Table 4-2. Localization scores for each condition

	Condition 1	Condition 2:	Condition 3:	Condition 4:
Experiment 1	31.28 ± 6.78	31.63 ± 6.26	33.69 ± 5.41	19.62 ± 5.08
Experiment 2	32.41 ± 5.62	32.34 ± 5.29	33.59 ± 4.03	22.41 ± 3.78
Both experiment	31.82 ± 6.23	31.97 ± 5.78	33.64 ± 4.76	20.92 ± 4.69

Results are presented as means and standard deviation of the mean, maximum score is 40. **Condition 1:** Stimulation with a mixed trigeminal stimulus, **Condition 2:** Contralateral co-stimulation with an olfactory stimulus on the trigeminal stimulus, **Condition 3:** Ipsilateral co-stimulation with an olfactory stimulus on the trigeminal stimulus, **Condition 4:** Stimulation with a pure odorant. Experiment 1 used mustard oil odor as trigeminal stimulus and phenylethanol as olfactory stimulus. Experiment 2 used eucalyptol odor as trigeminal stimulus and vanillin odor as olfactory stimulus.

Discussion

The purpose of this study was to assess the effect of a co-stimulation with a pure odorant on the capacity to localize a trigeminal stimulus. Our main finding is that ipsilateral, but not contralateral, co-stimulation with a pure odorant increased the ability to localize a trigeminal stimulus.

We confirmed our first hypothesis by showing that an olfactory co-stimulation with a pure odorant enhances the capacity to localize of a trigeminal stimulus. There are only few studies on this effect since most studies usually focus on the opposite effect, that is, on the influence of the trigeminal system on the olfactory system (Cain and Murphy 1980; Bouvet et al. 1987; Jacquot et al. 2004; Walliczek- Dworschak et al. 2017). However, our results are in line with previous studies, which showed that olfactory stimuli can enhance the intensity of a trigeminal stimulus (Kobal and Hummel 1988; Livermore et al. 1992; Roscher et al. 1997). For instance, both pure odorants hydrogen sulfide and vanillin enhanced the intensity of the pure trigeminal stimulus carbon dioxide (Livermore et al. 1992). Moreover, exposition to the pure olfactory stimulus of vanillin combined with the pure trigeminal stimulus of carbon dioxide, led to shorter latencies of the electrophysiological response than responses to either substance alone (Kobal and Hummel 1988). Furthermore, the intensity of the mixed olfactory/trigeminal stimulus of carvone was enhanced when presented with carbon dioxide (Livermore et al. 1992). In addition, patients with loss of olfactory function exhibit reduced trigeminal sensitivity, which supports the idea that a functional olfactory system is necessary for a complete functionality of the trigeminal system (Frasnelli et al. 2007). In summary, together with previous reports, our study suggests that simultaneous olfactory input amplifies the trigeminal response.

We know that the mutual interaction between trigeminal and olfactory systems depends on several factors such as the quality of the stimuli, the intensity of each stimulus, the concentration and presentation duration of the stimuli (Laing and Willcox 1987; Hummel and Livermore 2002; Brand 2006). It is therefore important to include stimuli of different nature in studies like ours. We used two different trigeminal stimuli in our study: mustard oil stimulates the TRAP1 receptors (Jordt et al. 2004) and produces a stinging and burning sensation (Frasnelli et al. 2011a), eucalyptol binds to TRPM8 receptors (Behrendt et al. 2004) and evokes sensations of cooling and freshness (Frasnelli et al. 2011a). Our results can therefore be generalized: odors

amplify the impact of a mixed olfactory/trigeminal stimulus on the trigeminal system, independently of the type of receptors activated. In line with this notion, the central processing pathway of trigeminal information does not depend on trigeminal receptors or sensations (Kollndorfer et al. 2015). This body of evidence suggests that measuring sensitivity to one trigeminal stimulus is sufficient to obtain a general assessment of the trigeminal system (Frasnelli et al. 2011a).

In line with our second hypothesis, we found that especially ipsilateral olfactory co-stimulation yields better performance at the localization task. In other words, ipsilateral but not contralateral olfactory co-stimulation increased the impact of trigeminal stimuli on the trigeminal system. This suggests that both sensory systems interact in the periphery and thus in the nasal mucosa, in addition to the previously suggested central nervous interactions (Cain and Murphy 1980).

In order to determine the exact site of the interaction, one has to have close look at the trigeminal pathway. Trigeminal perception arises from the stimulation of specific chemosensory receptors on trigeminal nerve endings, located in the respiratory and olfactory epithelium of the nasal cavity. Sensory information converges to the trigeminal ganglion and then enters the brainstem at the level of the pons to the first relay in the trigeminal nuclei. Information is then relayed to the thalamus and contralaterally to the primary and secondary somatosensory cortex and other structures such as the insula, orbitofrontal and piriform cortex (Frasnelli and Manescu 2017). Although the conveying nervous structures and the early central processing sites are different for olfactory and trigeminal system, they share peripheral and central anatomical structures. With regards to peripheral interaction, two anatomical structures are candidates for the transfer between both sensory systems. First, the trigeminal nerve innervates the olfactory epithelium in addition to the respiratory mucosa of the nose. Here, information may be transferred from one sensory system to the other, possibly through the release of substance P and other peptides, in consequence to an axon reflex upon trigeminal stimulation, that can cause local changes in the mucosa and modulate both systems activity at the receptor level (Bouvet et al. 1987; Finger et al. 1990; Daiber et al. 2013). A second candidate site is the olfactory bulb. In fact, here collaterals of the trigeminal nerve re-enter the central nervous system and terminate in the glomerular layer of the olfactory bulb (Schaefer et al. 2002). The function of these

collaterals, which have still to be confirmed in humans, is not yet clear. Here information could be transferred between both systems. To disentangle this, future studies could investigate electrophysiological signals from the mucosa to measure the peripheral response to trigeminal stimuli (Hummel 2000).

It is important to note that we did not observe the expected effect of contralateral stimulation on the localization scores. At first sight, this seems to contradict a central interaction between both sensory systems, which has however been showed before. For instance, simultaneous contralateral (as well as ipsilateral) olfactory stimulation with amyl butyrate and trigeminal stimulation with carbon dioxide led to increased intensity ratings for both stimuli (Cain and Murphy 1980). Several possible explanations can be put forward to explain why we did not observe the same effect: it could be that 1) the localization score is not sensitive to central interaction. In other words, while simultaneous contralateral olfactory and trigeminal stimulation leads to the perception of stimuli with higher intensity, this may not translate into higher localization scores. Future studies could confirm this hypothesis by looking at correlation between intensity ratings and localization score. Another possible explanation could be that 2) the site of the interaction between olfactory and trigeminal systems depends on the nature of the stimuli. In fact, earlier studies which showed central interaction used amyl butyrate as the olfactory stimulus. However, this particular compound actually also has trigeminal properties and is therefore not a pure olfactory stimulus (Doty et al. 1978). In our study, the olfactory stimuli, had only minimal, if any, trigeminal component. Second, carbon dioxide, which was used in the earlier report does not stimulate the sense of smell, which is very rarely found. In our study, both trigeminal stimuli had a clear olfactory component, and are therefore mixed olfactory/trigeminal stimuli. In summary, Cain and Murphy (1980) exposed both nostrils to stimuli that have trigeminal properties (one nostril a pure trigeminal stimulus, the other nostril a mixed olfactory/trigeminal stimulus), and only one nostril with an olfactory stimulus (mixed olfactory/trigeminal stimulus) whereas we exposed both nostrils to olfactory stimuli (one nostril to a pure olfactory stimulus, the other nostril to a mixed olfactory/trigeminal stimulus) and only one nostril to a stimulus with trigeminal properties (the mixed olfactory/trigeminal stimulus). This could potentially explain the discrepancies between the results of the studies, as one could hypothesize that the trigeminal component of a mixed olfactory/trigeminal stimulus combined

with the trigeminal stimulus stimulates more trigeminal receptor and therefore enhances not only the peripheral response but also the central response. In line with this, mixed olfactory/trigeminal stimulus dominate over both, olfactory and trigeminal stimuli presented alone (Livermore et al. 1992; Hummel and Livermore 2002). As an alternative explanation, stimulation with a mixed odorant may reflect a superior memory trace by activating both olfactory and trigeminal pathways, as previous studies speculated (Lyman et al. 1990; Livermore et al. 1992)). Therefore, dual encoding of both modalities (olfactory/trigeminal) of mixed stimuli would provide more activated pathways and cortical areas for retrieval of chemosensory information. These diverse findings, however, are in line with previous studies that showed that the effect of the co-stimulation is difficult to predict and depends on the quality of the stimulus (Laing and Willcox 1987; Hummel and Livermore 2002). Our results suggest that the nature of the stimulus, that is, pure olfactory, mixed or pure trigeminal, is of particular interest to study the interactions between both systems and futures studies should appropriately choose the stimulus to investigate this variable.

The present study has some limitations: first, we did not observe the effect when we analyzed both experiments separately. This suggests that the effect of olfactory co-stimulation on the localization task is relatively small. Second, we used an active stimulation paradigm during the localization task, where the odorant reaches the olfactory mucosa when the participant takes a deep breath. This technique does not allow to control the intensity and duration of the sniff and therefore, the total amount of molecules delivered to the nasal mucosa. It may therefore be that participants adapt their breathing to this and that volume and/or vigor of the inspiration were not equal between tasks. These are however important factors as the trigeminal system works by integrating the total number of molecules over time (Cometto-Muniz and Cain 1998; Wise et al. 2009; Frasnelli et al. 2011b; Frasnelli et al. 2017). Future studies should control for this by appropriately monitoring breathing.

To conclude, using psychophysical techniques, we have shown that an ipsilateral, but not a contralateral, co-stimulation with a pure odorant increase the capacity to localize a trigeminal stimulus. These results seem to be explained by an interaction between the olfactory and trigeminal systems at the level of the nasal mucosa.

Funding

This work was supported by grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada [2015–04597], Fonds de Recherche du Québec - Santé scholar [#32618], and the UQTR Research Chair in Chemosensory Neuroanatomy. C.T. is supported by an FRQS scholarship.

Acknowledgements

We would like to thank É. Ouellet, J. Gagnon, and R. Ouellet-Paradis for their contribution to the testing and we thank all the participants in this study.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Behrendt HJ, Germann T, Gillen C, Hatt H, Jostock R. 2004. Characterization of the mouse cold-menthol receptor TRPM8 and vanilloid receptor type-1 VR1 using a fluorometric imaging plate reader (FLIPR) assay. *Br J Pharmacol*. 141:737–745.
- Bouvet JF, Delaleu JC, Holley A. 1987. Olfactory receptor cell function is affected by trigeminal nerve activity. *Neurosci Lett*. 77:181–186.
- Boyle JA, Frasnelli J, Gerber J, Heinke M, Hummel T. 2007a. Cross-modal integration of intranasal stimuli: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroscience*. 149:223–231.
- Boyle JA, Heinke M, Gerber J, Frasnelli J, Hummel T. 2007b. Cerebral activation to intranasal chemosensory trigeminal stimulation. *Chem Senses*. 32:343–353.
- Brand G. 2006. Olfactory/trigeminal interactions in nasal chemoreception. *Neurosci Biobehav Rev*. 30:908–917.
- Cain WS, Murphy CL. 1980. Interaction between chemoreceptive modalities of odour and irritation. *Nature*. 284:255–257.
- Cometto-Muñoz JE, Cain WS. 1998. Trigeminal and olfactory sensitivity: comparison of modalities and methods of measurement. *Int Arch Occup Environ Health*. 71:105–110.
- Croy I, Schulz M, Blumrich A, Hummel C, Gerber J, Hummel T. 2014. Human olfactory lateralization requires trigeminal activation. *Neuroimage*. 98:289–295.

- Daiber P, Genovese F, Schriever VA, Hummel T, Möhrle F, Frings S. 2013. Neuropeptide receptors provide a signalling pathway for trigeminal modulation of olfactory transduction. *Eur J Neurosci.* 37:572–582.
- Doty RL, Brugger WE, Jurs PC, Orndorff MA, Snyder PJ, Lowry LD. 1978. Intranasal trigeminal stimulation from odorous volatiles: psychometric responses from anosmic and normal humans. *Physiol Behav.* 20:175–185.
- Finger TE, Getchell ML, Getchell TV, Kinnamon JC. 1990. Afferent and efferent functions of peptidergic innervation of the nasal cavity. In: Green BG, Mason JR, Kare MR, editors. *Chemical senses: irritation*. New York: Marcel Dekker. p. 1–20.
- Frasnelli J, Albrecht J, Bryant B, Lundstrom JN. 2011a. Perception of specific trigeminal chemosensory agonists. *Neuroscience.* 189:377–383.
- Frasnelli J, Charbonneau G, Collignon O, Lepore F. 2009. Odor localization and sniffing. *Chem Senses.* 34:139–144.
- Frasnelli J, Gingras-Lessard F, Robert J, Steffener J. 2017. The effect of stimulus duration on the nostril localization of eucalyptol. *Chem Senses.* 42:303–308.
- Frasnelli J, Hummel T, Berg J, Huang G, Doty RL. 2011b. Intranasal localizability of odorants: influence of stimulus volume. *Chem Senses.* 36:405–410.
- Frasnelli J, Manescu S. 2017. The intranasal trigeminal system. In: Büttner A, editor. *Springer handbook of odor*. Cham: Springer International Publishing. p. 113–114.
- Frasnelli J, Schuster B, Hummel T. 2007. Interactions between olfaction and the trigeminal system: what can be learned from olfactory loss. *Cereb Cortex.* 17:2268–2275.
- Friedland K, Harteneck C. 2017. Spices and Odorants as TRP Channel Activators. In: Büttner A, editor. *Springer handbook of odor*. Cham: Springer International Publishing. p. 85–86.
- Hummel T. 2000. Assessment of intranasal trigeminal function. *Int J Psychophysiol.* 36:147–155.
- Hummel T, Doty RL, Yousem DM. 2005. Functional MRI of intranasal chemosensory trigeminal activation. *Chem Senses.* 30(Suppl 1): i205–i206.
- Hummel T, Futschik T, Frasnelli J, Huttenbrink KB. 2003. Effects of olfactory function, age, and gender on trigeminally mediated sensations: a study based on the lateralization of chemosensory stimuli. *Toxicol Lett.* 140–141:273–280.
- Hummel T, Iannilli E, Frasnelli J, Boyle J, Gerber J. 2009. Central processing of trigeminal activation in humans. *Ann NY Acad Sci.* 1170:190–195.
- Hummel T, Kobal G, Gudziol H, Mackay-Sim A. 2007. Normative data for the “Sniffin’ Sticks” including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an upgrade based on a group of more than 3,000 subjects. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 264:237–243.

- Hummel T, Livermore A. 2002. Intranasal chemosensory function of the trigeminal nerve and aspects of its relation to olfaction. *Int Arch Occup Environ Health*. 75:305–313.
- Inokuchi A, Kimmelman CP, Snow JB Jr. 1993. Convergence of olfactory and nasotrigeminal inputs and possible trigeminal contributions to olfactory responses in the rat thalamus. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 249:473–477.
- Jacquot L, Monnin J, Brand G. 2004. Influence of nasal trigeminal stimuli on olfactory sensitivity. *C R Biol*. 327:305–311.
- Jordt SE, Bautista DM, Chuang HH, McKemy DD, Zygmunt PM, Högestätt ED, Meng ID, Julius D. 2004. Mustard oils and cannabinoids excite sensory nerve fibres through the TRP channel ANKTM1. *Nature*. 427:260–265.
- Kleemann AM, Albrecht J, Schöpf V, Haegler K, Kopietz R, Hempel JM, Linn J, Flanagan VL, Fesl G, Wiesmann M. 2009. Trigeminal perception is necessary to localize odors. *Physiol Behav*. 97:401–405.
- Kobal G, Hummel C. 1988. Cerebral chemosensory evoked potentials elicited by chemical stimulation of the human olfactory and respiratory nasal mucosa. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 71:241–250.
- Kobal G, Van Toller S, Hummel T. 1989. Is there directional smelling? *Experientia*. 45:130–132.
- Kollndorfer K, Kowalczyk K, Frasnelli J, Hoche E, Unger E, Mueller CA, Krajnik J, Trattinig S, Schöpf V. 2015. Same same but different. Different trigeminal chemoreceptors share the same central pathway. *PLoS One*. 10:e0121091.
- Laing DG, Willcox ME. 1987. An investigation of the mechanisms of odor suppression using physical and dichorhnic mixtures. *Behav Brain Res*. 26:79–87.
- Laska M, Distel H, Hudson R. 1997. Trigeminal perception of odorant quality in congenitally anosmic subjects. *Chem Senses*. 22:447–456.
- Livermore A, Hummel T, Kobal G. 1992. Chemosensory event-related potentials in the investigation of interactions between the olfactory and the somatosensory (trigeminal) systems. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 83:201–210.
- Lyman BJ, McDaniel MA. 1990. Memory for odors and odor names: Modalities of elaboration and imagery. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn*. 16:656–664.
- Peirce JW. 2007. PsychoPy–Psychophysics software in Python. *J Neurosci Methods*. 162:8–13.
- Roscher S, Mohammadian JG, Schneider A, Wendler J, Hummel T, Kobal G. 1997. Olfactory input facilitates trigeminal chemosensitivity. *Chem Senses*. 22:212

- Schaefer ML, Böttger B, Silver WL, Finger TE. 2002. Trigeminal collaterals in the nasal epithelium and olfactory bulb: a potential route for direct modulation of olfactory information by trigeminal stimuli. *J Comp Neurol*. 444:221–226.
- Walliczek-Dworschak U, Poncelet J, Baum D, Baki R, Sinding C, Warr J, Hummel T. 2017. The presentation of olfactory-trigeminal mixed stimuli increases the response to subsequent olfactory stimuli. *J Agric Food Chem*. doi: 10.1021/acs.jafc.6b04342.
- Wise PM, Wysocki CJ, Lundström JN. 2012. Stimulus selection for intranasal sensory isolation: eugenol is an irritant. *Chem Senses*. 37:509–514.
- Wise PM, Zhao K, Wysocki CJ. 2009. Dynamics of nasal chemesthesis. *Ann N Y Acad Sci*. 1170:206–214.
- Wysocki CJ, Wise PM. 2003. Methods, approaches and caveats for functionally evaluating olfaction and chemesthesis. In: CRC Press Taylor & Francis, editor. *Handbook of Flavor Characterization: Sensory Analysis, Chemistry, and Physiology*. US: CRC press. p. 1–47.

Chapitre 5. Article 4 – Specific intranasal and central trigeminal electrophysiological responses in Parkinson's disease.

Cécilia Tremblay^{1,2}, Rosa Emrich², Annachiara Cavazzana², Liza Klingelhoefer³, Moritz D Brandt^{3,4}, Thomas Hummel², Antje Haehner², Johannes Frasnelli^{1,5}.

Publié dans le *Journal of Neurology*, (Tremblay *et al.*, 2019)

Tremblay C, Emrich R, Cavazzana A, Klingelhoefer L, Brandt MD, Hummel T, Haehner A, Frasnelli J (2019) Specific intranasal and central trigeminal electrophysiological responses in Parkinson's disease. *J Neurol* 266, 2942-2951. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00415-019-09517-4>

Affiliations

1. Research Chair in Chemosensory Neuroanatomy, Department of Anatomy, Université du Québec à Trois-Rivières (UQTR), Trois-Rivières, QC, Canada
2. Smell and Taste Clinic, Department of Otorhinolaryngology, TU Dresden, Dresden, Germany
3. Department of Neurology, TU Dresden, Dresden, Germany
4. German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE), Dresden, Germany
5. Research Center of the Sacré-Cœur Hospital, Montréal, QC, Canada

Contribution des auteurs

J'ai moi-même élaboré cette étude que nous avons ensuite mise en place avec J. Frasnelli. Le protocole de recherche a été développé en collaboration avec T. Hummel et A. Haehner de la clinique du goût et de l'odorat du département d'ORL de l'Université Technique de Dresden (Allemagne). J'ai appliqué à divers organismes et obtenu le financement (bourse RBIQ, bourse BIR) nécessaire à la réalisation de mon stage en Allemagne afin d'y exécuter de cette étude. J'ai appris les techniques d'enregistrement avec l'aide et l'expertise de A. Cavazzana,

Postdoctorante, puis collecté les données avec l'aide de R. Emrich, étudiante en médecine. J'ai analysé les données avec l'aide de A. Cavazzana. La Dr Haehner était responsable de l'évaluation clinique et la collecte de données clinique des patients avec la MP. Les Drs Klingelhoef et Brandt sont des neurologues ayant référé des patients. J'ai rédigé l'article avec J. Frasnelli, tous les autres co-auteurs ont révisé et approuvé le manuscrit.

Mise en contexte

Afin de mieux comprendre nos résultats comportementaux suggérant qu'il n'y a pas d'atteinte du système trigéminal dans la MP, en contraste avec la présence d'une réduction de la sensibilité trigéminal dans les TONP, nous avons développé cette étude pour évaluer si le patron de réponse électrophysiologique reflétait les résultats comportementaux. Cette étude visait spécifiquement l'évaluation de l'intégrité du traitement trigéminal à divers niveaux, soit périphérique (muqueuse nasale) et central, chez des patients avec la MP en comparaison avec des TONP et des participants contrôles.

Abstract

Olfactory dysfunction is a frequent early non-motor symptom of Parkinson's disease (PD). There is evidence that with regards to trigeminal perception, PD-related olfactory dysfunction is different from other olfactory disorders. More specifically, trigeminal sensitivity, when measured behaviorally was unimpaired in PD patients as opposed to patients with non-Parkinsonian olfactory dysfunction (NPOD). We sought to investigate the trigeminal pathway by measuring electrophysiological recordings from the nasal epithelium and EEG-derived event-related potentials in response to a specific trigeminal stimulus, in 21 PD patients and compare them to 23 patients with NPOD and 25 controls (C).

The peripheral trigeminal response, as measured by the negative mucosa potential, showed no difference between patients with PD and controls whereas PD patients showed faster responses than patients with NPOD, the latter having shown slower and larger responses than controls (18 PD, 14 NPOD, 20 C). The central trigeminal response, as measured by event-related potentials, revealed larger early components response in PD patients compared to patients with NPOD (15 PD, 21 NPOD, 23 C). As expected, psychophysical olfactory testing showed

impaired olfactory function in both groups of patients as opposed to controls. Discriminant analysis revealed a model that could predict group membership for 80% of participants based on the negative-mucosa-potential-latency, olfactory threshold and discrimination tests. These results provide novel insights on the pattern of trigeminal activation in PD which will help to differentiate PD-related olfactory loss from NPOD, a crucial step towards establishing early screening batteries for PD including smell tests.

Introduction

Olfactory dysfunction (OD) is an early non-motor symptom of Parkinson's disease (PD) present in 90% to 96% of patients [1,2]. Olfactory loss related to PD seems to be distinct from other forms of OD (e.g., due to viral infection, sinunasal disease, or traumatic brain injuries), especially with regards to its influence on the trigeminal system. This third chemosensory system, next to smell and taste, is stimulated by most volatiles and allows for the perception of sensations such as freshness, warmth, stinging, or tickling from odorous stimuli [3]. The trigeminal system is intimately connected to the olfactory system as both systems are stimulated simultaneously by most of odorants [4]. Both systems interact by mutually enhancing or suppressing each other [5] and the stimulation with respective stimuli leads to central activation of overlapping brain areas [6]. As a consequence of this connection, the trigeminal system is typically impaired in patients with OD when compared to healthy controls [7-10]. This appears to be different in PD: when measured by the behavioral trigeminal localization task, the trigeminal sensitivity is not impaired in patients with PD compared to patients with non-Parkinsonian olfactory dysfunction (NPOD) [11]. This task is based on the fact that localization of an odorous stimulus presented to one nostril is only possible if the stimulus also activates the trigeminal system. This result suggests that the assessment of trigeminal sensitivity may help to discriminate between PD-related OD and NPOD. This finding may contribute to an early diagnosis of the disease, which is needed to evaluate the potential of early therapeutic interventions [12]. However, the underlying mechanisms behind this disparity need still to be elucidated.

In order to understand the reason why the trigeminal system is not affected - or affected differently - in PD-related OD, one has to look at how OD typically impairs trigeminal

processing. Electrophysiological methods allow for the investigation of trigeminal processing at different levels with high temporal precision. When applied to patients with NPOD, a typical pattern emerges in response to trigeminal stimuli: central measures, such as the EEG-derived trigeminal event-related potentials (tERP) are significantly smaller in patients with OD compared to controls [10,13,14], in line with behavioral results [7]. However, on the receptor level at the nasal respiratory mucosa, the negative-mucosa-potential [NMP[15]] shows increased peripheral responses with larger amplitudes in patients with NPOD. This is likely to be a consequence of compensation [16] and underlines the intimate connection between both sensory systems.

It is still unknown whether the different levels of trigeminal processing are affected in the same way in patients with PD as in patients with NPOD. There is some indirect evidence that this is not the case. First, patients with PD have significantly superior abilities than patients with NPOD to localize odorous stimuli [11] and they perceive the trigeminal dimensions of odors as well as controls [17]. Second, tERP are not different between patients with PD and controls with a normal sense of smell [18-20]. A differentiation between groups would allow to characterize a specific pattern of OD in PD. However, no study has yet compared patients with PD and patients with NPOD using these electrophysiological measurements. Further, no investigations on the peripheral trigeminal system in PD have been conducted so far. Measuring electrophysiological responses to trigeminal stimulation may help to comprehend how PD affects olfactory and trigeminal processing. Two possible alternative hypotheses may be put forward; (1) the entire trigeminal pathway, including its periphery, may be unimpaired in patients with PD and show similar responses as in controls. In other words, one would expect significantly *smaller* peripheral and significantly *larger* central responses in patients with PD compared to patients with NPOD. Alternatively, (2) the peripheral compensation observed in NPOD may be even more pronounced in patients with PD. In other words, one would find significantly *larger* peripheral and significantly *larger* central responses in patients with PD compared to patients with NPOD.

In order to investigate these hypotheses, this study was designed to assess the trigeminal pathway by measuring peripheral NMP and central ERP electrophysiological responses to trigeminal stimuli in (1) patients with PD and compare them to (2) patients with NPOD and to

(3) healthy controls.

Methods

This study was conducted at the Smell and Taste Clinic of the Department of Otolaryngology of the Technical University of Dresden (TU Dresden). All aspects of the study were performed in accordance with the Declaration of Helsinki on biomedical research involving human subjects. The study protocol was approved by the TU Dresden Ethics Committee (EK 268072017). After a detailed explanation of the study, all participants provided written informed consent prior to their inclusion in the study. The total testing last 3 hours including breaks.

Participants

A total of 69 participants were tested.

Twenty-one were PD patients and were recruited from the Department of Neurology at the TU Dresden and the local PD association. All participants went through a complete neurological exam and had received the diagnosis of PD according to United Kingdom PD Society Brain Bank diagnostic criteria [21]. All Parkinson patients were on stable anti-Parkinsonian medication. We recorded disease duration, age of onset, Unified PD Rating Scale (UPDRS) motor score, Hoehn & Yahr stage, medication, and we calculated the Levodopa equivalent daily dose (LEDD) [22]. Patients with unclear diagnosis or symptoms compatible with an atypical Parkinsonian syndrome were excluded. Patients with nasal pathology that might have caused concurrent OD non-related to the disease (such as sinunasal pathologies, head trauma, or viral infections) were excluded.

Furthermore, 23 patients with NPOD were recruited from the Smell and Taste Clinic. They were examined and diagnosed for post-infectious olfactory loss by an ENT specialist and they had an olfactory score indicative of hyposmia or anosmia. The mean duration of OD was 9.9 months. Patients with idiopathic olfactory loss were specifically excluded considering their possibly elevated risk of developing PD [23].

Twenty-five healthy control participants, in good general health with a normal sense of smell, were enrolled from the community. They were matched in terms of sex and age to patients with PD. Report to Table 5.1.

To avoid any effect of cognition or depression, cognitive function was assessed using the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) [24] and possible depression was addressed with the Beck Depression Inventory (BDI) questionnaire [25].

Table 5-1. Characteristics of study population and main results

Variable	Controls (n=25)	PD patients (n=21)	NPOD patients (n=23)
Sex (F/M)	16;9	11;10	18;5
Age	63.0 ± 7.3	66.33 ± 5.5	62.0 ± 7.8
Female	62.5 ± 6.9	65.4 ± 4.8	62.6 ± 7.8
Male	63.7 ± 8.4	67.4 ± 4.8	59.6 ± 7.9
Age at onset (yrs)*	NA	59.9 ± 6.7	NA
Disease duration (yrs)*	NA	6.39 ± 4.6	NA
UPDRS motor score	NA	24.7 ± 12.8	NA
Hoehn & Yahr Stage	NA	2.4 ± 0.7 (1-3)	NA
LEDD (mg)	NA	709.7 ± 326.3 (0-1500)	NA
MoCA test	27.1 ± 5.4	26.4 ± 2.7	26.5 ± 2.3
BDI	1.42 ± 1.6	2.67 ± 3.0	1.8 ± 2.2
TDI score	34.5 ± 3.1	17.8 ± 6.7	20.4 ± 4.3

Data are presented as means and standard deviation. Abbreviations: LEDD= Levodopa equivalent daily dose, MoCA= Montreal Cognitive Assessment, UPDRS= Unified Parkinson Disease Rating Scale, BDI=Beck Depression Inventory TDI = summation of the 3 olfactory subtests; threshold, discrimination and identification.

Electrophysiological measurements

NMP recordings, as previously described [15,16,26], were obtained using a tubular electrode, polytetrafluoroethylene tubing filled with 1% ringer-agar containing a silver-chlorided wire [27]. A new electrode was prepared for each participant. The electrode was placed onto the nasal septum, site of high trigeminal sensitivity [28], under endoscopic control in the most easily accessible nostril. The electrode was fixed to an adjustable clip mounted on a frame similar to lensless glasses. To validate the position of the electrode, one test stimulus of CO₂ was delivered. If no NMP was recorded, the electrode was replaced to another position, up to 5 times. In case of no signal, the participant was excluded [15].

Simultaneously to the NMP recordings, tERPs were obtained from position Fz, Cz and Pz (according to the international 10/20 system). For reference, electrodes were placed on both earlobes. An electrode at position Fp2 was used to track eye blinks. Recordings were made with an EEG amplifier (SIR, Röttenbach, Germany). The sampling frequency was 125 Hz, and the measurement period of 8.2 seconds including a 0.5 second pre-trigger period; time constant was 5 s with a low pass of 15 Hz.

During recording, participants were comfortably seated in an air-conditioned room. White noise was used to mask the noise from the switching clicks of the stimulator. Participants were instructed to perform a tracking task on a video monitor in order to keep them in a wake and vigilant state during the recording [29]. Participants were taught to use a specific breathing technique [velopharyngeal closure [30]] in order to avoid respiratory flow inside the nasal cavity.

Stimuli were presented using a computer-controlled olfactometer (OM6b, Burghart, Wedel, Germany) that allows for the presentation of odorants in a constant odorless air flow of 7 L/min, humidified air of controlled temperature (36°C, relative humidity 80%) [15]. The stimuli were presented by means of a teflon tube (8 cm length, 4/2 mm outer/inner diameter) inserted into the same nostril of the NMP recording electrode. CO₂ was selected as a selective trigeminal stimulus which does not produce olfactory co-activation [31]. Each participant received 25 stimulations of CO₂ (concentration 50% v/v; Air Liquide, Düsseldorf, Germany), embedded in the air flow. The number of stimulations was chosen to avoid the effect of fatigue as well as to obtain enough epochs to analyse [32]. The duration of each stimulus was 500 ms with an inter-stimulus interval (ISI) of 30 (\pm 3) seconds to avoid habituation.

Psychophysical tests

Olfactory function was assessed using the “Sniffin’ Sticks” test (Burghart, Wedel, Germany), details are described elsewhere [33]. It includes 3 individual subtests: phenylethanol odor threshold, odor discrimination, and odor identification. As it is standard procedure, we obtained a global olfactory score by adding the results of the 3 subtests (TDI score) for which normative values are available to allow for the diagnosis of anosmia (below 16), hyposmia (between 16 and 30.3) and normosmia (above 30.3) [33].

In order to further assess any possible correlation between trigeminal sensitivity and pain threshold, electrical pain threshold was measured (model DS7a; Digitimer Ltd., Welwyn Garden City, UK). Electrical stimuli were presented through a stimulating bar electrode placed on the forearm of the participant. The stimulation started at 0.5 mA with a stimulus duration of 500 ms. Every 20 s, the intensity was gradually increased up to a maximum of 10 mA. Participants were asked to rate the intensity of the stimulus after each stimulation from 0 (no irritation) to 10 (very irritating) and to stop when the stimulus would be irritating for them. The mean mA value of 2 trials was used as pain threshold.

Participants were asked to rate the intensity and the pain perceived of the CO₂ presented during the electrophysiological recordings twice, after the first test stimulation and after the 25 stimulations. They rated the stimulus on Likert scales graded from 0 to 10, 0 being “not perceived” to 10 “very intense” and 0 being “not painful” to 10 “very painful”, respectively.

Statistical analysis

Pre-processing of electrophysiological data was carried out using Letswave 5 software in Matlab (R2017). First, recordings that might have been contaminated by movements, blinks or other artifacts were excluded from further analysis. After artifact rejection on the data, some participants had to be excluded from further analysis because of insufficient number of epochs, therefore NMP analysis included 18 PD patients, 14 NPOD patients and 20 controls participants and ERP analysis included 15 PD patients, 21 NPOD patients and 23 controls. Then, all remaining epochs were baseline corrected and filtered (low-pass filter, 15Hz). For the NMP signal, epochs were averaged, peak amplitudes, latency (P1, N1) and peak-to-peak amplitudes (P1N1) were measured. For the ERP signal from electrodes Fz, Cz and Pz, peak amplitudes, latencies (P1, N1, P2) and peak-to-peak amplitudes (P1N1 and N1P2) were measured.

There were no drops-out, therefore all participants were included in the analysis and no measured variable were discarded. Statistical analyses were carried out using SPSS 23.0 (SPSS Inc., IL, USA). For NMP measurements, separate univariate ANOVA analyses were computed to compare the amplitude of the negativity, the latency of the negativity and peak-to-peak amplitude (positivity/baseline to the negativity) between groups, with post-hoc group comparisons (Bonferroni corrected unless otherwise stated).

For ERPs analysis, separate multivariate ANOVAs were computed to compare effects between groups. Specifically, the dependent variables were (1) ERP peak-to-peak amplitude P1N1 and N1P2 with *group* (3 levels: PD, NPOD, control) as between subject factor and *position* (3 levels: Fz, Cz, Pz), and *measure* (2 levels: P1N1, N1P2) as within subject variable; (2) ERP latency and amplitude using *group* (3 levels) as between subject factors and *position* (3 levels: Fz, Cz Pz) and *latencies* or *amplitude* (3 levels: P1, N1, P2) as within subject variable. Separate univariate ANOVAs were computed for amplitudes and latencies for each ERP peak (P1, N1, P2).

For behavioral data, separate univariate ANOVAs were computed to compare the TDI, pain threshold, CO₂ intensity ratings, CO₂ pain ratings, BDI and MoCA, with post-hoc group comparisons. We computed Pearson correlation between trigeminal measurements (NMP negativity, ERP amplitudes), and cognitive function (MoCA), and motor severity scores (UPDRS, Hoehn & Yahr stage, disease duration, LEDD), amongst the PD group.

Further, a predictive discriminant analysis was computed to determine the probability of group membership based on predictors variable. This analysis looks for a lineal combination of variables which best describe the major differences between groups and classify the subjects into different groups. Therefore, this analysis points to which variables amongst those we measured would help the best to differentiate the three groups of participants and how accurately the discriminant function can predict group membership. To do so, *group* was used as the dependent variable and all the measured variables (NMP amplitude and latency, EEG amplitudes and latencies, olfactory threshold, identification and discrimination, pain threshold, CO₂ intensity ratings and CO₂ pain ratings) were included in the analysis as potentials predictors.

For all analyses, the level of significance was set at $p < 0.05$

Results

Negative mucosa potential

With regard to peak latency, a significant effect of *group* was observed ($F[2,49] = 7.08$; $p = 0.002$, $\eta_p^2 = 0.224$); post-hoc comparisons revealed a significantly prolonged latency in

patients with NPOD compared to controls ($p = 0.005$) and to patients with PD ($p = 0.005$) but no differences between patients with PD and controls. With regards to peak amplitudes, again an effect of *group* was found ($F[2,49] = 4.87$; $p = 0.012$, $\eta_p^2 = 0.224$); post-hoc comparisons revealed a significantly larger amplitude in patients with NPOD compared to controls ($p = 0.01$). There were no differences between patients with PD and patients with NPOD patients and between patients with PD and controls (Fig.5.1).

Event-related potentials

With regards to peak-to-peak amplitudes, multivariate ANOVA revealed a significant effect of *measure* ($F[1, 47] = 122.63$; $p < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.584$), *position* ($F[2, 47] = 61.10$; $p < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.722$) and an interaction between *measure* and *position* ($F[2, 47] = 25.38$; $p < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.519$). To disentangle these effects, separate multivariate ANOVA were carried out for peak-to-peak amplitudes P1N1 and N1P2.

A significant effect of *group* was found for P1N1 ($F[2, 48] = 4.23$; $p = 0.02$, $\eta_p^2 = 0.150$), but no effect of *position* ($F[2, 48] = 1.27$; $p = 0.28$, $\eta_p^2 = 0.052$) and no interaction between *position* and *group* ($F[2, 48] = 0.73$; $p = 0.57$, $\eta_p^2 = 0.030$) were found. Post-hoc group comparisons detected significantly larger amplitudes in patients with PD compared to patients with NPOD ($p = 0.026$), no significant difference, but a trend was found between patients with PD and controls ($p = 0.059$) with the former having larger amplitudes. There were no differences between patients with NPOD and controls either.

No effect of *group* ($F[2, 48] = 0.63$; $p = 0.94$, $\eta_p^2 = 0.003$), *position* nor any interaction were found for N1P2.

Moreover, there was no effect on amplitudes or latencies of the peaks P1, N1, P2 (all $p > 0.05$) (Fig. 5.2).

Psychophysical tests

One patient with PD exhibited olfactory score indicating normosmia, 13 patients exhibited hyposmia and 7 functional anosmia. In patients with NPOD, the corresponding numbers were 0, 21 and 2. All controls had normal olfactory function. Comparison of olfactory

function (TDI), revealed a significant effect of *group* ($F[2,64] = 75.8$; $p < 0.001$, $\eta_p^2 = 0.703$). Post-hoc comparison showed that the controls performed significantly better than both patients with PD and patients with NPOD (both $p < 0.001$).

There was no significant difference between groups for depression (BDI: $F[2, 63] = 1.671$; $p = 0.196$) or cognition (MoCA: $F[2, 64] = 0.191$; $p = 0.827$). Similarly, no group difference were found for pain threshold ($F[2,61] = 0.46$; $p = 0.64$), CO₂ intensity ($F[2,64] = 0.17$; $p = 0.85$) and CO₂ pain ratings ($F[2,62] = 0.12$; $p = 0.89$) (Fig. 5.3).

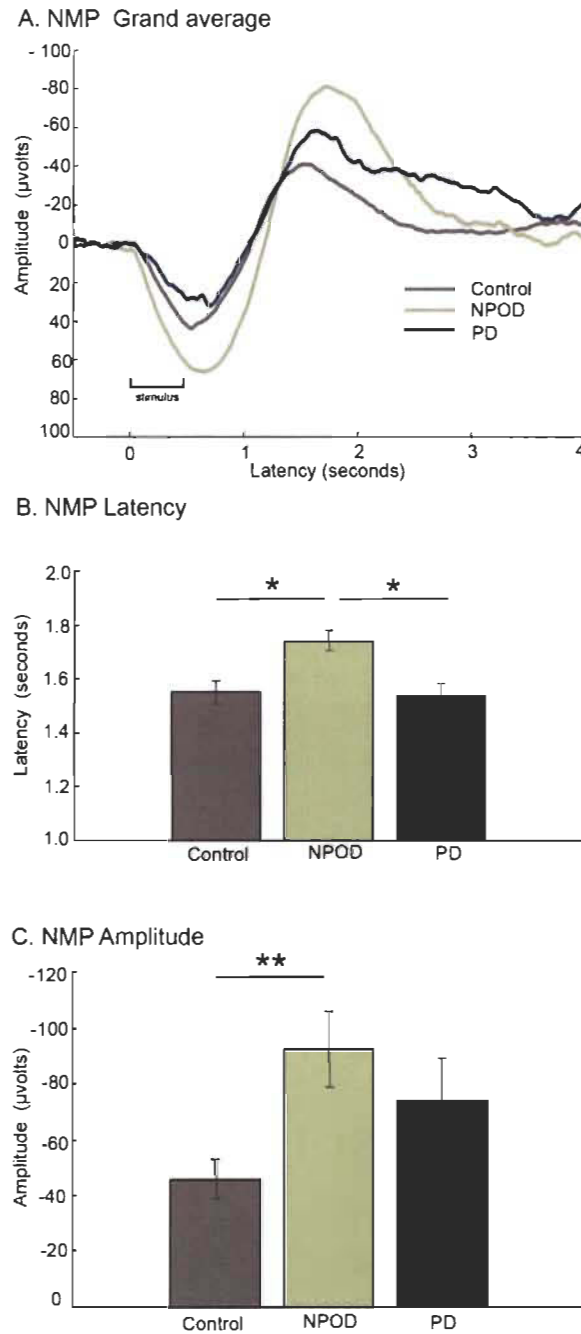
There were no correlations between the trigeminal measurements and cognitive function; MoCA and NMP latency ($r = 0.058$, $p = 0.688$), NMP amplitude ($r = 0.081$, $p = 0.574$), ERP N1 amplitude in Cz ($r = -0.126$, $p = 0.362$) and P2 amplitudes in Cz ($r = 0.082$, $p = 0.553$).

No correlations were found between trigeminal measurements and motor symptoms severity scores either.

Discriminant analysis

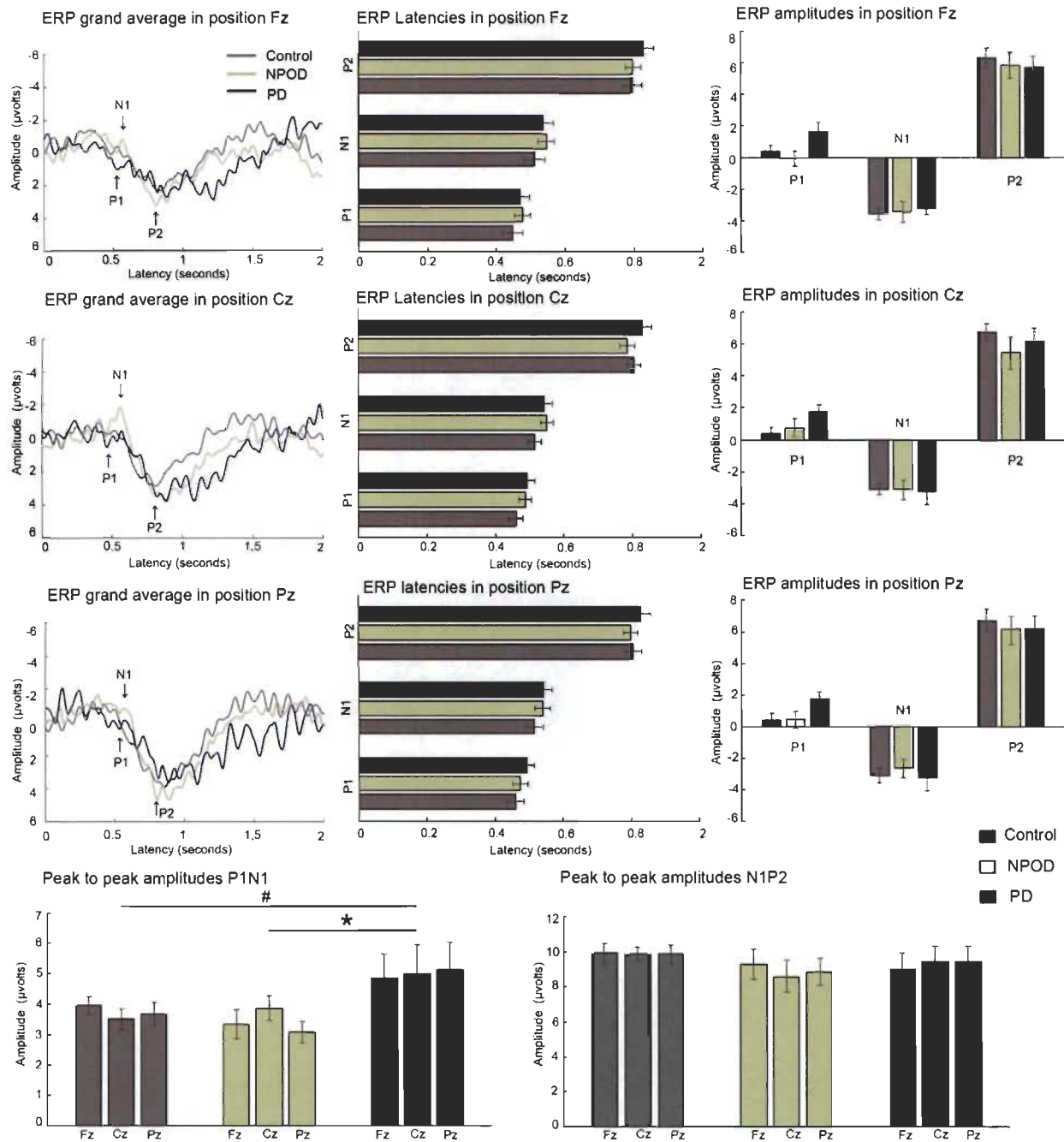
The discriminant model obtained identified 3 significant predictors variables, namely NMP latency, olfactory threshold, and olfactory discrimination score. Group predictions were statistically significant in their accuracy and could correctly identify group membership for 80.3% of the participants, with 76.6% patients with PD, 83.3% of patients with NPOD and 80.8% of the control group being correctly classified. The parameters of the two discriminant functions are: canonical discriminant function 1: $D_1 = -6.207 + 0.528(\text{NMP Latency}) + 0.472(\text{Threshold}) + 0.342(\text{Discrimination})$, eigenvalue= 5.38; canonical correlation= 0.92; Wilks' $\lambda = 0.105$; $p < 0.001$. Canonical discriminant function 2; $D_2 = -9.896 + 4.698(\text{NMP Latency}) - 0.239(\text{Threshold}) + 0.342(\text{Discrimination})$, eigenvalue= 0.493; canonical correlation= 0.575; Wilks' $\lambda = 0.670$; $p < 0.002$) (Fig. 5.4).

Figure 5-1. Peripheral negative mucosa potential response



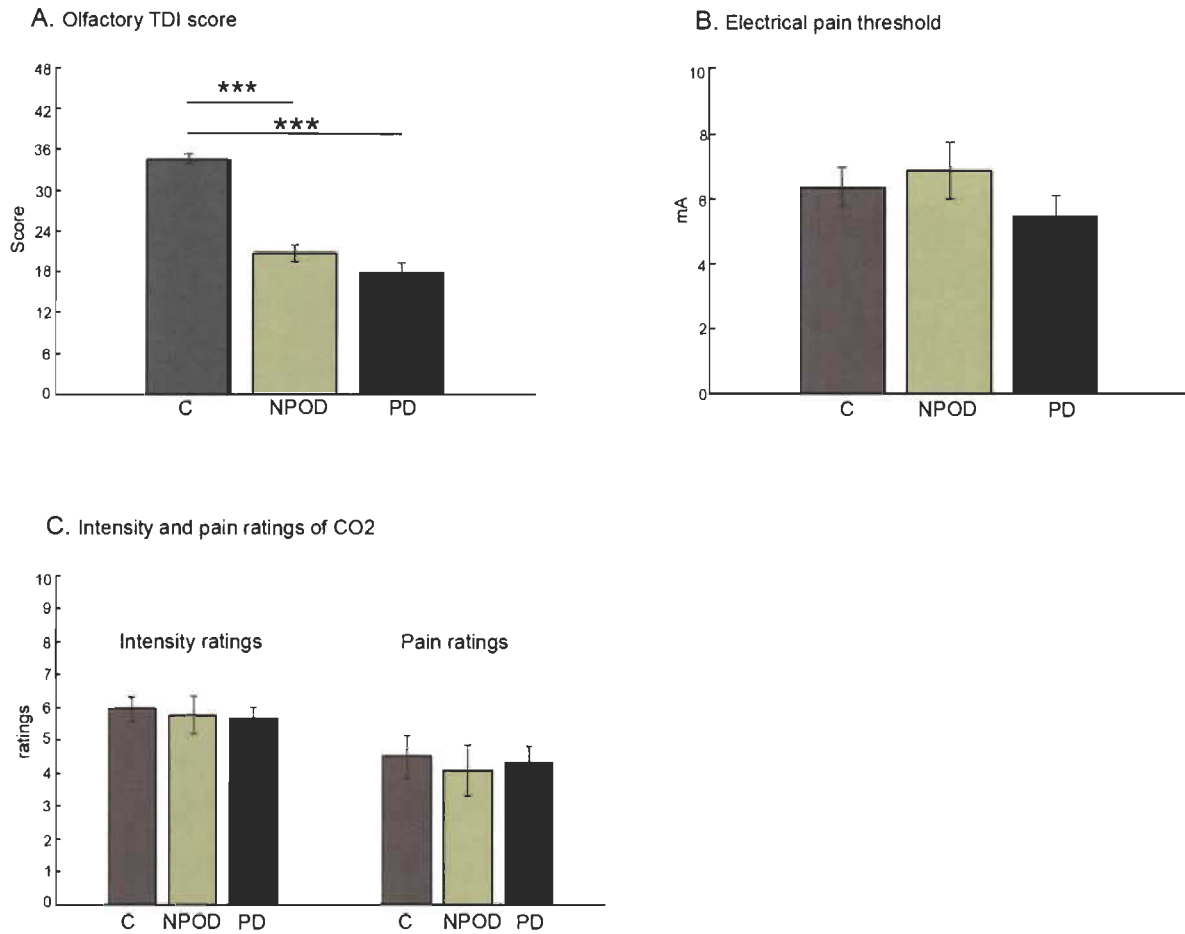
A. Grand means of the peripheral negative mucosa potential (NMP) in response to trigeminal stimulus in patients with Parkinson's disease (PD), patients with non-parkinsonian olfactory dysfunction (NPOD) and healthy controls. B. Latency of the response for the three groups. C. Amplitude of the response for the three groups. Data are presented as means and standard deviation of the mean.

Figure 5-2. Central event-related potential response.



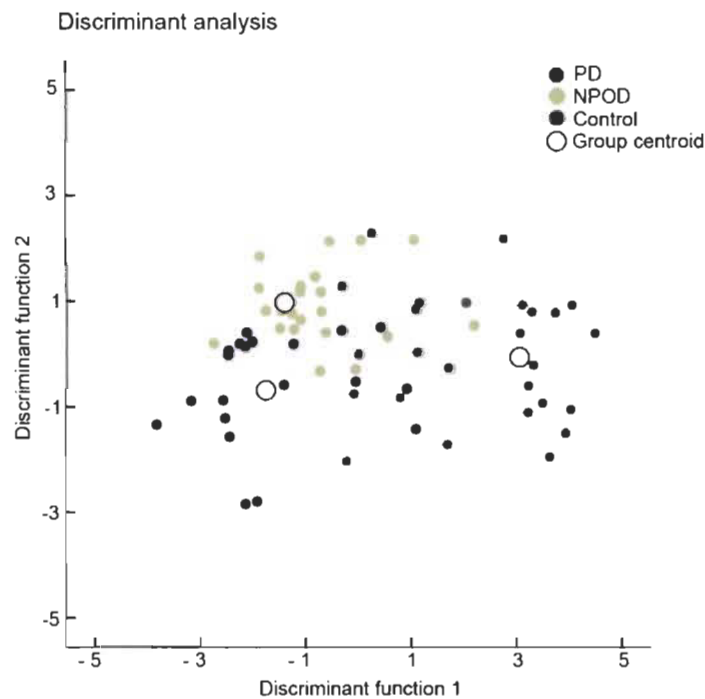
Grand means of trigeminal event-related potential (tERP) in position Fz, Cz and Pz for patients with Parkinson's disease (PD), patients with non-parkinsonian olfactory dysfunction (NPOD) and healthy controls (C). Amplitudes and latencies are represented for the main peaks P1, N1, and P2 and peak-to-peak amplitudes are represented for P1N1 and N1P2. Data are presented as means and standard deviation of the mean.

Figure 5-3. Psychophysical assessments.



A. Mean of the olfactory score TDI (summation of threshold, discrimination, and identification) for patients with Parkinson's disease (PD), patients with non-parkinsonian olfactory dysfunction (NPOD) and healthy controls (C). **B.** Mean of the electrical pain threshold measure at the forearm for the three groups. **C.** Ratings of the intensity and the pain perceived of the CO₂ stimulus presented during the EEG recordings session for the three groups.

Figure 5-4. Discriminant analysis between groups



Distribution of the three groups of participants (PD, NPOD, C) based on the functions of the predictive discriminant analysis. Three significant predictors variables, peripheral negative-mucosa potential latency, olfactory threshold and olfactory discrimination tasks, were identified and included in the discriminant functions. Discriminant function 1: $-6.207 + 0.528$ (NMP latency) $+ 0.472$ (threshold) $+ 0.342$ (discrimination) and discriminant function 2: $-9.896 + 4.698$ (NMP latency) $- 0.239$ (threshold) $+ 0.342$ (discrimination). The discriminant model obtained based on these variables could discriminate and predict group membership.

Discussion

In this study we described the result of the evaluation of the trigeminal pathway by recording electrophysiological responsiveness to a trigeminal stimulus in patients with PD compared to patients with NPOD and controls. We showed a specific pattern of trigeminal activity in patients with PD which is distinct from the one of patients with NPOD. As olfactory loss is an early feature of PD, these results are promising to help to differentiate PD-related

olfactory loss in early stages of the disease and therefore may contribute in the future to an early diagnosis of the disease.

On peripheral levels, we observed prolonged NMP latencies in patients with NPOD as opposed to both patients with PD and controls. Additionally, larger NMP amplitudes were detected in patients with NPOD when compared to controls. No differences were found between patients with PD and controls. The findings on patients with NPOD correspond to a previous study on patients with acquired post-infectious and post-traumatic OD which reported larger NMP amplitudes in patients compared to controls [16]. Our result demonstrates a specific pattern of trigeminal response in PD-related OD and suggests that the peripheral trigeminal system is unimpaired in PD, in contrast to patients with NPOD and in line with our hypothesis 1. As previously proposed, larger NMP amplitudes in patients with NPOD may be due to missing olfactory inhibition of the peripheral trigeminal system [16].

However, this mechanism appears to be different in patients with PD-related OD. Hence, different etiologies of OD seem to affect the peripheral trigeminal system differently. In the present study, patients with NPOD suffered from post-infectious OD consequent to upper respiratory tract infection mainly caused by viruses [34]. These viruses also lead to significant peripheral damage of the olfactory epithelium [35,36] and the consequent inflammatory reaction leads to epithelial changes and as a consequence to olfactory loss [37]. Conversely, in patients with PD, OD is rather related to central nervous impairment and no peripheral differences were reported yet. In fact, no histochemical differences of the olfactory epithelium were observable [38]. In summary, functional differences between NPOD and PD-related OD are observable on the level of the respiratory mucosa. Future studies should investigate to what extent this difference has a histological underpinning.

On a central level, patients with NPOD exhibited a smaller P1N1 peak amplitude than patients with PD. The P1N1 peak is an early ERP component thought to reflect the exogenous cortical activity related to sensory detection and linked, amongst other, to stimulus concentration and utilization time at the receptor level rather than the cognitive processing [39,40]. No group difference was observed for late ERP components. These findings could therefore again be explained by a difference in peripheral trigeminal sensitivity in patients with PD compared to patients with NPOD.

Previous studies on trigeminal ERPs in patients with PD did not report any differences when compared to controls [18-20]. In contrast to this, we observed a trend to larger N1P1 peaks in patients with PD compared to controls. Although this difference was not significant, one may question the conclusion that the whole trigeminal pathway is unchanged in patients with PD. This is particularly interesting in the context of patients with PD being hypersensitive to painful stimuli [41]. Actually, stimulation of the trigeminal system activates chemosensory somatosensory fibers (A δ and C fibers), leading to the activation of central trigeminal processing areas as well as pain related pathways. The CO₂ stimulus we used was mildly painful, and patients with PD might be hypersensitive to it as well. In fact, pain is a common early feature of PD, and patients experience more pain than age-matched controls [42]. However, we did not observe any group differences in pain thresholds, possibly due to the fact that patients were all on anti-Parkinsonian medication known to affect pain sensitivity [41]. Future studies with larger samples may have a closer look at the relation between pain threshold and trigeminal sensitivity, preferably in non-medicated patients. One potential way could be to look at correlation between somatosensory electrical and mechanical pain threshold of the trigeminal nerve and chemosensory stimulation of intranasal branches of the trigeminal nerve [43].

Typically, patients with OD are known to show reduced central trigeminal ERP responses when compared to controls [13,10,16,14]. However, we were unable to detect this difference; small sample size may have played a role, but it is also possible that patients with NPOD did not suffer from a pronounced olfactory loss, as most patients exhibited hyposmia and only few exhibited functional anosmia [10].

Trigeminal responsiveness in PD exhibits a specific pattern. This suggests that interactions between the olfactory and the trigeminal systems are affected differently between different etiologies of OD. In patients with PD, OD is thought to be related to central nervous impairment, with accumulation of Lewy bodies typically starting in olfactory bulb [44], and central cholinergic denervation [45]. There is evidence of functional microstructural changes in olfactory structures in early stages of PD as opposed to controls [46]. Moreover, central ERP responses to olfactory and trigeminal stimuli display a continuous chaotic brain pattern in PD, as opposed to the ordered state observed in healthy participants [20]. Further, the localization of brain sources provided evidence for differences in mainly late EEG-components suggesting a

decline of central brain networks as a causal factor for olfactory loss in PD and indicating a different pattern of olfactory processing in PD compared to patients with NPOD [47]. Further, primary olfactory cortex was shown to be hyperactive in PD despite an impaired olfactory function [48]. These possible compensatory mechanisms that take place in PD were not reported in NPOD. In fact, patients with post-viral olfactory loss show an intact central functional olfactory network despite a reduced connectivity [49]. It is therefore conceivable that a deficient olfactory system in PD affects the trigeminal system differently in these patients. Actually, the trigeminal system can be affected by the olfactory system by neuroanatomical connections between both systems at the level of the olfactory epithelium and bulb [50,51] and on central regions responsible for processing of both trigeminal and olfactory stimulus [52,6]. Our understanding of the underlying mechanisms would benefit from futures studies investigating central trigeminal connectivity in patients with PD compared to patients with NPOD.

Although our conclusions were drawn using a limited number of participants, we used specific tools to assess the trigeminal function and differentiate intranasal and central effects, that were never used in patients with PD. Even though these experimental methods are not yet applicable to large populations in a clinical context clinical, due to technical and time constraints, we report a specific trigeminal central activation in PD patients. To elucidate the underlying mechanism, techniques such as functional MRI should be used. Our model could correctly predict group membership in 80% of participants based on olfactory testing and on the peripheral trigeminal latency response, as evidence that both olfactory and trigeminal testing could lead to the development of crucial tools to discriminate PD-related olfactory loss. Therefore, the development of more efficient tools to assess precisely and rapidly the trigeminal sensitivity, for instance the reaction time to respond to trigeminal stimuli is a promising avenue to help the diagnostic of PD.

To conclude, we found a specific pattern of trigeminal activation in patients with PD that allowed to differentiate PD-related olfactory loss from other forms of OD. Futures studies should now characterize the trigeminal profile in the prodromal phase to better define this early stage of the disease and help to establish a biomarker profile including other early symptoms of PD, in a common goal to select suitable candidate for potential neuroprotective essay.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the local association of PD (Deutsche Parkinson Vereinigung e.V. and DPV e.V. Regionalgruppe Dresden) and all the participants. Thanks to C. Guducu for the help with the olfactometer setting.

Funding

This work was supported by grants from the Parkinson Society of Canada (JF, 2017-1120), the Quebec research funds (JF, Fonds de Recherche du Québec – Santé; scholar #32618), the Quebec Bio-Imaging Network (CT) and the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG HU411/18-1).

References

1. Doty RL (2012) Olfactory dysfunction in Parkinson disease. *Nature reviews Neurology* 8 (6):329-339. doi:10.1038/nrneurol.2012.80
2. Haehner A, Boesveldt S, Berendse HW, Mackay-Sim A, Fleischmann J, Silburn PA, Johnston AN, Mellick GD, Herting B, Reichmann H, Hummel T (2009) Prevalence of smell loss in Parkinson's disease--a multicenter study. *Parkinsonism & related disorders* 15 (7):490-494. doi:10.1016/j.parkreldis.2008.12.005
3. Laska M, Distel H, Hudson R (1997) Trigeminal perception of odorant quality in congenitally anosmic subjects. *Chemical senses* 22 (4):447-456
4. Doty RL, Brugger WE, Jurs PC, Orndorff MA, Snyder PJ, Lowry LD (1978) Intranasal trigeminal stimulation from odorous volatiles: psychometric responses from anosmic and normal humans. *Physiology & behavior* 20 (2):175-185
5. Cain WS, Murphy CL (1980) Interaction between chemoreceptive modalities of odour and irritation. *Nature* 284 (5753):255-257
6. Boyle JA, Frasnelli J, Gerber J, Heinke M, Hummel T (2007) Cross-modal integration of intranasal stimuli: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroscience* 149 (1):223-231. doi:10.1016/j.neuroscience.2007.06.045

7. Hummel T, Futschik T, Frasnelli J, Huttenbrink KB (2003) Effects of olfactory function, age, and gender on trigeminally mediated sensations: a study based on the lateralization of chemosensory stimuli. *Toxicology letters* 140-141:273-280
8. Iannilli E, Gerber J, Frasnelli J, Hummel T (2007) Intranasal trigeminal function in subjects with and without an intact sense of smell. *Brain research* 1139:235-244. doi:10.1016/j.brainres.2006.12.082
9. Frasnelli J, Schuster B, Hummel T (2010) Olfactory dysfunction affects thresholds to trigeminal chemosensory sensations. *Neuroscience letters* 468 (3):259-263. doi:10.1016/j.neulet.2009.11.008
10. Rombaux P, Mouraux A, Keller T, Hummel T (2008) Trigeminal event-related potentials in patients with olfactory dysfunction. *Rhinology* 46 (3):170-174
11. Tremblay C, Durand Martel P, Frasnelli J (2017) Trigeminal system in Parkinson's disease: A potential avenue to detect Parkinson-specific olfactory dysfunction. *Parkinsonism & related disorders* 44:85-90. doi:10.1016/j.parkreldis.2017.09.010
12. Darweesh SK, Verlinden VJ, Stricker BH, Hofman A, Koudstaal PJ, Ikram MA (2017) Trajectories of prediagnostic functioning in Parkinson's disease. *Brain* 140 (2):429-441. doi:10.1093/brain/aww291
13. Ren Y, Yang L, Guo Y, Xutao M, Li K, Wei Y (2012) Intranasal trigeminal chemosensitivity in patients with postviral and post-traumatic olfactory dysfunction. *Acta oto-laryngologica* 132 (9):974-980. doi:10.3109/00016489.2012.663933
14. Hummel T, Barz S, Lotsch J, Roscher S, Kettenmann B, Kobal G (1996) Loss of olfactory function leads to a decrease of trigeminal sensitivity. *Chemical senses* 21 (1):75-79
15. Kobal G (1985) Pain-related electrical potentials of the human nasal mucosa elicited by chemical stimulation. *Pain* 22 (2):151-163
16. Frasnelli J, Schuster B, Hummel T (2007) Interactions between olfaction and the trigeminal system: what can be learned from olfactory loss. *Cereb Cortex* 17 (10):2268-2275. doi:10.1093/cercor/bhl135
17. Tremblay C, Durand Martel P, Frasnelli J (2018) Chemosensory perception is specifically impaired in Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*. doi:10.1016/j.parkreldis.2018.08.002
18. Barz S, Hummel T, Pauli E, Majer M, Lang CJ, Kobal G (1997) Chemosensory event-related potentials in response to trigeminal and olfactory stimulation in idiopathic Parkinson's disease. *Neurology* 49 (5):1424-1431
19. Hawkes CH, Shephard BC, Daniel SE (1997) Olfactory dysfunction in Parkinson's disease. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 62 (5):436-446

20. Guducu C, Taslica S, Cakmur R, Ozgoren M, Ikiz AO, Oniz A (2015) Assessing Olfactory Function in Parkinson's Disease via Entropy Analysis of Chemosensory Event Related Potentials. *The Tohoku journal of experimental medicine* 237 (2):111-116. doi:10.1620/tjem.237.111
21. Litvan I, Bhatia KP, Burn DJ, Goetz CG, Lang AE, McKeith I, Quinn N, Sethi KD, Shults C, Wenning GK (2003) Movement Disorders Society Scientific Issues Committee report: SIC Task Force appraisal of clinical diagnostic criteria for Parkinsonian disorders. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 18 (5):467-486. doi:10.1002/mds.10459
22. Tomlinson CL, Stowe R, Patel S, Rick C, Gray R, Clarke CE (2010) Systematic review of levodopa dose equivalency reporting in Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 25 (15):2649-2653. doi:10.1002/mds.23429
23. Ponsen MM, Stoffers D, Twisk JW, Wolters E, Berendse HW (2009) Hyposmia and executive dysfunction as predictors of future Parkinson's disease: a prospective study. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 24 (7):1060-1065. doi:10.1002/mds.22534
24. Nasreddine ZS, Phillips NA, Bedirian V, Charbonneau S, Whitehead V, Collin I, Cummings JL, Chertkow H (2005) The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. *Journal of the American Geriatrics Society* 53 (4):695-699. doi:10.1111/j.1532-5415.2005.53221.x
25. Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J (1961) An inventory for measuring depression. *Archives of general psychiatry* 4:561-571
26. Thurauf N, Gunther M, Pauli E, Kobal G (2002) Sensitivity of the negative mucosal potential to the trigeminal target stimulus CO(2). *Brain research* 942 (1-2):79-86
27. Ottoson D (1955) Analysis of the electrical activity of the olfactory epithelium. *Acta physiologica Scandinavica Supplementum* 35 (122):1-83
28. Scheibe M, Schmidt A, Hummel T (2012) Investigation of the topographical differences in somatosensory sensitivity of the human nasal mucosa. *Rhinology* 50 (3):290-293. doi:10.4193/Rhino11.224
29. Kobal G, Hummel C, Nuernberg B, Brune K (1990) Effects of pentazocine and acetylsalicylic acid on pain-rating, pain-related evoked potentials and vigilance in relationship to pharmacokinetic parameters. *Agents and actions* 29 (3-4):342-359
30. Kobal G (1981) Elektrophysiologische untersuchungen des menschlichen geruchssinns. Thieme,

31. Hummel T (2000) Assessment of intranasal trigeminal function. *International journal of psychophysiology : official journal of the International Organization of Psychophysiology* 36 (2):147-155
32. Rombaux P, Huart C, Mouraux A (2012) Assessment of chemosensory function using electroencephalographic techniques. *Rhinology* 50 (1):13-21. doi:10.4193/Rhino11.126
33. Hummel T, Kobal G, Gudziol H, Mackay-Sim A (2007) Normative data for the "Sniffin' Sticks" including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an upgrade based on a group of more than 3,000 subjects. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 264 (3):237-243. doi:10.1007/s00405-006-0173-0
34. Hummel T, Whitcroft K, Andrews P, Altundag A, Cinghi C, Costanzo R, Damm M, Frasnelli J, Gudziol H, Gupta N (2017) Position Paper on Olfactory Dysfunction. *Rhinology* 54 (Supplement 26). doi:10.4193/Rhin16.248
35. Seiden AM (2004) Postviral olfactory loss. *Otolaryngologic clinics of North America* 37 (6):1159-1166. doi:10.1016/j.otc.2004.06.007
36. Yamagishi M, Fujiwara M, Nakamura H (1994) Olfactory mucosal findings and clinical course in patients with olfactory disorders following upper respiratory viral infection. *Rhinology* 32 (3):113-118
37. Leopold D (2000) A Perplexing Olfactory Loss. *Archives of otolaryngology--head & neck surgery* 126 (6):803
38. Witt M, Bormann K, Gudziol V, Pehlke K, Barth K, Minovi A, Hahner A, Reichmann H, Hummel T (2009) Biopsies of olfactory epithelium in patients with Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 24 (6):906-914. doi:10.1002/mds.22464
39. Pause BM, Krauel K (2000) Chemosensory event-related potentials (CSERP) as a key to the psychology of odors. *International journal of psychophysiology : official journal of the International Organization of Psychophysiology* 36 (2):105-122
40. Olofsson JK, Nordin S (2004) Gender differences in chemosensory perception and event-related potentials. *Chemical senses* 29 (7):629-637. doi:10.1093/chemse/bjh066
41. Sung S, Vijiaratnam N, Chan DWC, Farrell M, Evans AH (2018) Pain sensitivity in Parkinson's disease: Systematic review and meta-analysis. *Parkinsonism & related disorders* 48:17-27. doi:10.1016/j.parkreldis.2017.12.031
42. Antonini A, Tinazzi M, Abbruzzese G, Berardelli A, Chaudhuri KR, Defazio G, Ferreira J, Martinez-Martin P, Trenkwalder C, Rascol O (2018) Pain in Parkinson's disease: facts and uncertainties. *European journal of neurology* 25 (7):917-e969. doi:10.1111/ene.13624

43. Iannilli E, Del Gratta C, Gerber JC, Romani GL, Hummel T (2008) Trigeminal activation using chemical, electrical, and mechanical stimuli. *Pain* 139 (2):376-388. doi:10.1016/j.pain.2008.05.007
44. Braak H, Del Tredici K, Rub U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E (2003) Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of aging* 24 (2):197-211
45. Bohnen NI, Müller MLTM, Kotagal V, Koeppe RA, Kilbourn MA, Albin RL, Frey KA (2010) Olfactory dysfunction, central cholinergic integrity and cognitive impairment in Parkinson's disease. *Brain* 133 (6):1747-1754. doi:10.1093/brain/awq079
46. Joshi N, Rolheiser TM, Fisk JD, McKelvey JR, Schoffer K, Phillips G, Armstrong M, Khan MN, Leslie RA, Rusak B, Robertson HA, Good KP (2017) Lateralized microstructural changes in early-stage Parkinson's disease in anterior olfactory structures, but not in substantia nigra. *Journal of neurology* 264 (7):1497-1505. doi:10.1007/s00415-017-8555-3
47. Iannilli E, Stephan L, Hummel T, Reichmann H, Haehner A (2017) Olfactory impairment in Parkinson's disease is a consequence of central nervous system decline. *Journal of neurology* 264 (6):1236-1246. doi:10.1007/s00415-017-8521-0
48. Moessnang C, Frank G, Bogdahn U, Winkler J, Greenlee MW, Klucken J (2011) Altered activation patterns within the olfactory network in Parkinson's disease. *Cereb Cortex* 21 (6):1246-1253. doi:10.1093/cercor/bhq202
49. Kolindorfer K, Jakab A, Mueller CA, Trattinig S, Schopf V (2015) Effects of chronic peripheral olfactory loss on functional brain networks. *Neuroscience* 310:589-599. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.09.045
50. Daiber P, Genovese F, Schriever VA, Hummel T, Mohrlen F, Frings S (2013) Neuropeptide receptors provide a signalling pathway for trigeminal modulation of olfactory transduction. *The European journal of neuroscience* 37 (4):572-582. doi:10.1111/ejn.12066
51. Schaefer ML, Bottger B, Silver WL, Finger TE (2002) Trigeminal collaterals in the nasal epithelium and olfactory bulb: a potential route for direct modulation of olfactory information by trigeminal stimuli. *The Journal of comparative neurology* 444 (3):221-226. doi:10.1002/cne.10143
52. Fournel A, Ferdenzi C, Sezille C, Rouby C, Bensafi M (2016) Multidimensional representation of odors in the human olfactory cortex. *Human brain mapping* 37 (6):2161-2172. doi:10.1002/hbm.23164

Chapitre 6. Article 5 – Olfactory bulb surroundings can help to distinguish Parkinson’s disease from non-parkinsonian olfactory dysfunction.

Cécilia Tremblay¹, Jie Mei¹, Johannes Frasnelli^{1,2}

Publié dans le journal *NeuroImage : Clinical*, (Tremblay *et al.*, 2020b)

Tremblay C, Mei J, Frasnelli J (2020) Olfactory bulb surroundings can help to distinguish Parkinson’s disease from non-parkinsonian olfactory dysfunction. *NeuroImage: Clinical*, In press. Doi : <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2020.102457>

Affiliations

1. Department of Anatomy, Université du Québec à Trois-Rivières, 3351 Boul. des Forges, Trois-Rivières, G9A 5H7, Québec, Canada
2. Research Center, Sacré-Coeur Hospital of Montreal, 5400 boul. Gouin Ouest, Montréal, H4J 1C5, Québec, Canada

Contribution des auteurs

La conception et planification de l’étude ont été réalisées par J. Frasnelli et moi-même. J’ai participé avec J Frasnelli à l’écriture d’une demande de financement RBIQ que nous avons obtenue pour la collecte de données IRM. J’ai été responsable de l’écriture du protocole, de la demande éthique, du recrutement de participants et de la collecte de données et de la supervision de stagiaires qui ont aidé à la collecte de données. J’ai réalisé l’analyse volumétrique des bulbes olfactifs et les analyses statistiques. J. Mei a réalisé toutes les analyses en lien avec l’apprentissage profond et a collaboré à l’écriture de la méthode et la réalisation des figures. Nous avons tous les trois participés à l’interprétation des résultats obtenus. J’ai écrit la première version de l’article qui a été corrigé et validé par les co-auteurs.

Mise en contexte

Afin d'identifier de potentielles différences entre le trouble de l'odorat associé à la MP et le TONP, nous avons conçu cette étude pour comparer une région olfactive d'intérêt, le bulbe olfactif, qui est l'une des premières structures atteintes dans la MP. Cette étude visait la différenciation du volume du bulbe olfactif entre des patients atteints de la MP, d'autres TONP et des participants contrôles. De plus, pour évaluer le potentiel du bulbe olfactif et des structures adjacentes à différencier un trouble de l'odorat associé à la MP, nous avons appliqué un algorithme d'apprentissage profond sur les images IRM de cette région visant la classification d'images de patients atteints de la MP ou d'un TONP.

Abstract

Background: The olfactory bulb is one of the first regions of insult in Parkinson's disease (PD), consistent with the early onset of olfactory dysfunction. Investigations of the olfactory bulb may, therefore, help early pre-motor diagnosis. We aimed to investigate olfactory bulb and its surrounding regions in PD-related olfactory dysfunction when specifically compared to other forms of non-parkinsonian olfactory dysfunction (NPOD) and healthy controls.

Methods: We carried out MRI-based olfactory bulb volume measurements from T2-weighted imaging in scans from 15 patients diagnosed with PD, 15 patients with either post-viral or sinonasal NPOD and 15 control participants. Further, we applied a deep learning model (convolutional neural network; CNN) to scans of the olfactory bulb and its surrounding area to classify PD-related scans from NPOD-related scans.

Results: Compared to controls, both PD and NPOD patients had smaller olfactory bulbs, when measured manually (both $p < .001$) whereas no difference was found between PD and NPOD patients. In contrast, when a CNN was used to differentiate between PD patients and NPOD patients, an accuracy of 88.3 % was achieved. The cortical area above the olfactory bulb which stretches around and into the olfactory sulcus appears to be a region of interest in the differentiation between PD and NPOD patients.

Conclusion: Measures from and around the olfactory bulb in combination with the use of a deep learning model may help differentiate PD patients from patients with NPOD, which may be used to develop early diagnostic tools based on olfactory dysfunction.

Keywords: Parkinson's disease, Olfactory dysfunction, Olfactory bulb volume, Machine learning, Convolutional neural networks

Introduction

Olfactory dysfunction (OD) is a highly prevalent symptom of Parkinson's disease (PD) affecting over than 90% of PD patients (Doty, 2012; Haehner *et al.*, 2009). OD appears well before the onset of motor symptoms and is therefore considered as an early marker of PD (Bowman, 2017; Ross *et al.*, 2008). Even though the cause of OD in PD is still unknown, olfactory deficits have been associated with alterations of central olfactory relevant regions including the olfactory bulb, the first relay station of the olfactory system which is located under the orbitofrontal cortex (Braak *et al.*, 2003a; Hawkes *et al.*, 2010). Consistent with the early onset of OD, accumulation of Lewy bodies, a pathological hallmark of PD, starts in the olfactory bulb (Beach *et al.*, 2009a; Braak *et al.*, 2003a; Hawkes *et al.*, 2007). Accordingly, post-mortem studies revealed a significant loss of neurons in the olfactory bulb of PD patients (Pearce *et al.*, 1995). The olfactory bulb is considered as a possible induction site for Lewy pathology (Beach *et al.*, 2009a; Beach *et al.*, 2009b), and it may serve as an entry point for pathogens to enter and spread throughout the brain via the olfactory pathways (Braak *et al.*, 2003b; Doty, 2008; Rey *et al.*, 2018). Furthermore, pathological changes are observed across different brain regions of the olfactory system, including the anterior olfactory nucleus, the amygdala, the piriform, the entorhinal, and the orbitofrontal cortex (Harding *et al.*, 2002; Silveira-Moriyama *et al.*, 2009). Therefore, investigating olfactory structures, especially the olfactory bulb, may help early pre-motor diagnosis that might eventually contribute to halting or delaying disease progression (Berardelli *et al.*, 2013; Fullard *et al.*, 2017).

Magnetic resonance imaging (MRI)-based measurements of the olfactory bulb are an established method commonly used to assess olfactory bulb volume as an indicator of olfactory function (Burmeister *et al.*, 2011; Rombaux *et al.*, 2009a; Yousem *et al.*, 1997). Volumetric

measures of the olfactory bulb as well as the olfactory sulcus, a cortical structure of the orbitofrontal cortex just above the olfactory bulb, are positively correlated with psychophysical measurements of olfactory function in health (Buschhuter *et al.*, 2008; Hummel *et al.*, 2003; Mazal *et al.*, 2016) and disease (Haehner *et al.*, 2008; Hummel *et al.*, 2015). Olfactory bulb volume decreases with aging (Buschhuter *et al.*, 2008; Yousem *et al.*, 1998) and in patients with OD (Hummel *et al.*, 2015), but increases during recovery from OD (Gudziol *et al.*, 2009; Rombaux *et al.*, 2012) or following olfactory training (Negoias *et al.*, 2017), on account of its high plasticity (Huart *et al.*, 2019; Lötsch *et al.*, 2014). The olfactory bulb receives bottom-up projections from the nasal mucosa as the olfactory receptor neuron directly project to the olfactory bulb, and forwards information to various parts of the primary olfactory cortex including the anterior olfactory nucleus, the olfactory tubercle, the piriform cortex, the amygdala and the entorhinal cortex (Smith and Bhatnagar, 2019), that in turn project principally to the orbitofrontal cortex and other structures of the secondary olfactory cortex (Lundstrom *et al.*, 2011). Here, the area around the olfactory sulcus equally exhibits correlations between anatomical measures (cortical thickness, depth) and olfactory function (Delon-Martin *et al.*, 2013; Frasnelli *et al.*, 2010; Hummel *et al.*, 2003). In addition, the olfactory bulb can also be affected by top-down modulation due to projections from higher olfactory and non-olfactory cortical structures as different neuromodulatory fibers enter the olfactory bulb to inhibit or facilitate its activity and plays a role in olfactory learning and habituation (Cleland and Linster, 2019; Linster and Cleland, 2002; Rothermel and Wachowiak, 2014).

Measurements of the olfactory bulb volume of PD patients have led to mixed results. Some studies reported reduced olfactory bulb volume in PD as opposed to controls (Brodoehl *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2014; Hang *et al.*, 2015; Tanik *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2011), whereas other found no significant group differences (Altinayar *et al.*, 2014; Hakyemez *et al.*, 2013; Hummel *et al.*, 2010; Mueller *et al.*, 2005a; Paschen *et al.*, 2015). This may be related to low sample size, selected populations, and other factors, as a meta-analysis comprising 216 PD patients and 175 controls revealed a reduced olfactory bulb volume in PD patients compared with healthy controls, though putting forward the need for further investigations (Li *et al.*, 2016). In analogy, the olfactory sulcus is also reduced in PD patients (Tanik *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2011), although there are important inconsistencies across studies and others did not report any

differences (Hang *et al.*, 2015). Pathophysiology of PD is still poorly understood and several hypotheses might explain the reduced olfactory bulb volume in PD, including (a) mechanisms affecting bottom-up transfer of information by potential alterations of the olfactory epithelium, and (b) top-down mechanisms through alterations of the central nervous system or (c) direct affection of the olfactory bulb (Mazal *et al.*, 2016).

OD is not specific to PD as there are several conditions that can affect olfactory function (Landis *et al.*, 2004), and only a small proportion of patients with idiopathic OD will convert to PD (Haehner *et al.*, 2019). Therefore, a step towards using OD as an early diagnostic tool in PD patients is to differentiate PD-related OD from other forms of acquired non-parkinsonian OD (NPOD), such as post-viral OD (i.e., following a viral infection of the upper respiratory tract), sinonasal OD (i.e., in the context of sinonasal disease), or post-traumatic OD (i.e., as a consequence of a traumatic brain injury). Olfactory bulb volume and olfactory sulcus depth have been extensively studied in different conditions affecting olfaction (Hummel *et al.*, 2015) and a reduced olfactory bulb volume was reported in patients with post-viral OD (Mueller *et al.*, 2005b; Rombaux *et al.*, 2006a; Rombaux *et al.*, 2009b; Yao *et al.*, 2017), post-traumatic OD (Han *et al.*, 2018; Mueller *et al.*, 2005b; Rombaux *et al.*, 2006b; Yousem *et al.*, 1999), sinonasal OD (Rombaux *et al.*, 2008; Shehata *et al.*, 2018), idiopathic OD (Rombaux *et al.*, 2010) and in OD related to nasal obstruction (Altundag *et al.*, 2014; Askar *et al.*, 2015). However, no studies have specifically compared the olfactory bulb structure of PD patients to that of patients with NPOD. While NPOD affects the olfactory bulb mainly by alterations of the olfactory epithelium or by direct damage to the olfactory bulb, PD may also influence the olfactory bulb via central alterations in a disease specific manner; we therefore hypothesized that the olfactory bulb exhibits different structural features in PD patients and patients with NPOD.

Although regarded as the current standard, manual measurement of the olfactory bulb from MR images is a technique that might present with some limitations when aiming at differentiating PD and NPOD patients as these measures (1) only take the olfactory bulb volume into account and do not consider its shape, or the surrounding area that might contain relevant information, (2) are largely dependent on experience and therefore are subject to variability and potential errors (Burmeister *et al.*, 2011). Lately, alternative approaches such as deep learning models that can automatically and objectively extract information and patterns from structural

and functional neuroimaging data, have been introduced. Advancements in deep learning led to diverse applications to medical image segmentation and classification for diagnostic purposes (Razzak *et al.*, 2018). Some of these algorithms yield high performance in the diagnosis of early PD, and are considered as a promising tool for the search of biomarkers for neurologic diseases (Hirschauer *et al.*, 2015; Karapinar Senturk, 2020; Parisi *et al.*, 2018; Shinde *et al.*, 2019). More specifically, convolutional neural networks (CNN), a class of artificial neural networks frequently used in image processing and classification (Krizhevsky *et al.*, 2012), perform very well in the extraction of higher level features from medical images (Yasaka *et al.*, 2018) and give rise to high accuracy in the detection and assessment of neurological conditions such as PD (Sivaranjini and Sujatha, 2019) or Alzheimer's disease (Wang *et al.*, 2018). Taken together, we hypothesize that the use of deep learning algorithms differentiates PD-related OD from NPOD based on structural characteristics of the olfactory bulb and/or its surrounding regions.

We therefore designed and conducted this study to specifically investigate olfactory bulb structural differences between PD patients in comparison to patients with other forms of NPOD. More specifically, we first aimed to assess MRI-based olfactory bulb volume manual measurements in PD patients when compared to NPOD patients and healthy matched controls. Secondly, we applied a deep learning model to MRI images of the olfactory bulb and its surrounding regions to assess its ability to differentiate PD-related OD from NPOD.

Methods

Participants

All aspects of the study were performed in accordance with the Declaration of Helsinki on biomedical research involving human subjects. The study protocol was approved by the local ethics committees (Research Center of the Institut Universitaire de Gériatrie de Montréal at University of Montreal and at University of Quebec at Trois-Rivières). After being thoroughly informed about the study protocol, participants provided written consent prior to their inclusion in the study.

From the 48 participants initially enrolled, 45 participants completed the study, 2 participants were claustrophobic, one had a severe tremor and could not complete the scanning session. We included 15 PD patients that were recruited through the Quebec Parkinson Network,

and were diagnosed with PD according to the UK PD Society Brain Bank diagnostic criteria (Litvan et al., 2012). Diagnosis ascertainment and clinical data were provided by the Quebec Parkinson Network (Gan-Or et al., 2020). All patients were on stable anti-parkinsonian medication. Hoen and Yahr stage, age at onset, disease duration and calculated Levodopa equivalent daily doses (Tomlinson et al., 2010) are presented in table 1. Patients with unclear diagnosis and/or symptoms of atypical parkinsonian syndrome were excluded, as were patients with nasal pathology that might have caused concurrent OD non-related to the disease (Hummel et al., 2017).

Furthermore, we included 15 patients with NPOD that were recruited through the lab's database. The probable cause of OD was subjectively evaluated in an interview with the patient using a questionnaire adapted from Hummel et al., 2017. Included patients had either post-viral (n=10) or sinonasal OD (n=5). We specifically excluded (a) participants with neurological conditions or signs of motor dysfunction, (b) patients with idiopathic OD as they may have an elevated risk of developing PD (Haehner et al., 2019), (c) post-traumatic OD as the condition may be associated with neural damages unrelated to the OD (Lotsch et al., 2016), and (d) congenital anosmia as the condition is associated with altered neuronal processing (Frasnelli et al., 2013).

Finally, we enrolled 15 control participants in good general health with a normal olfactory function, from the community. Participants with neurological conditions or signs of motor dysfunction, cognitive decline or olfactory pathology were specifically excluded. Control participants were matched in terms of age and sex with PD patients. We confirmed that there was no age differences across the three groups [one-way ANOVA: $F(2, 42) = 1.18$; $p = .31$]. Further, cognitive function was assessed using the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) (Nasreddine et al., 2005) and symptoms of depression were assessed using the Beck Depression Inventory (BDI) questionnaire (Beck et al., 1961) in all participants. Report to Table 6.1 for participant's clinical data.

Olfactory testing:

All participants underwent olfactory testing using standardized "Sniffin Sticks" test (Burghart, Wedel, Germany), including olfactory threshold, discrimination and identification

tasks (Hummel et al., 1997; Hummel et al., 2007), for which we presented odorants in pen-like dispensing devices. Specifically, we assessed odor threshold with rose odor (phenyl ethanol) using a single staircase, in which the experimenter presented 3 pens to the participant (1 with a dilution of the odorant and 2 with the solvent). Using a forced choice design, we then instructed the participant to identify the odor-containing pen. We increased concentrations of the odorant when the odor was not correctly identified and decreased when the odor was correctly identified twice in a row. We defined the threshold as the mean of the 4 last reversals points (out of 7) of the staircase, leading to a score range from 1 to 16. For the discrimination task, we presented 3 odor-containing pens to the participant, with 2 pens containing the same odorant and a third pen containing a different odorant. Using a forced-choice design, we then asked participants to identify which of the three smelled different. We added up the number of correct identifications, leading to a score range from 0 to 16. For odor identification, the experimenter presented 16 common odorants to the participant and asked him/her to choose from a list of 4 descriptors. Again, we added up the number of correct identifications leading to a score range from 1 to 16. As a standard procedure, we obtained a global olfactory score by calculating the sum of scores of the three subtests (i.e., Threshold, Discrimination and Identification, TDI score; range: 1-48), for which normative values are available to classify participants in terms of functional anosmia (TDI < 16), hyposmia (between 16 and 30.3) and normosmia (Hummel et al., 2007).

MRI data acquisition

We acquired MRI data on a 3.0 Tesla Prisma Fit MRI scanner (Siemens Magnetom) using a 32-channel head coil, at the Functional Neuroimaging Unit of the research center at the Institut Universitaire de Gériatrie de Montréal (IUGM). Specifically, we acquired T2-weighted images in Turbo Spin Echo mode and 29 coronal slices of 2 mm were acquired with the following parameters: voxel size: 0.2 * 0.2 * 2.0 mm, repetition time: 6100.0 ms, echo time: 83 ms, field of view: 140 mm, flip angle: 150 deg., as previously described for olfactory bulb volumetry (Huart et al., 2013; Seubert et al., 2013). Total scanning session lasted one hour and included both structural and functional scans, results on functional connectivity within the chemosensory system are published elsewhere (Tremblay et al., 2020).

Olfactory bulb volume

We measured olfactory bulb volumes as previously described (Hummel et al., 2015; Rombaux et al., 2009a; Yousem et al., 1997) using MIPAV 9.0 (Medical Image Processing, Analysis, and Visualization) software package (Center for Information Technology, National Institutes of Health). We carried out planimetric contouring and drew boundaries of the left and right olfactory bulbs manually on each coronal slice. We considered the first anterior slice in which the olfactory bulb becomes visible as the first slice, and the sudden decrease in olfactory bulb diameter that marks the beginning of the olfactory tract as the last slice. We then added all drawn surfaces of each slice and multiplied them by the slice thickness (2 mm) to obtain a volume in mm³. (See Figure 6.1A)

Information on the subjects' group and olfactory score was concealed from the experimenter who measured the olfactory bulb volume. All volumes were measured at least twice by the same experimenter. When the difference between the two measurements was less than 10% of their average, we calculated the mean of both measurements which we then used in statistical analysis. If the difference was more than 10%, we carried out a third measurement, which was the case for 10 participants including 4 controls, 4 patients with NPOD and 2 PD patients, and used the two closest measures.

Statistical analysis

We performed statistical analysis of behavioral data and olfactory bulb volume using SPSS software (IBM SPSS Statistics 23.0). To compare the olfactory bulb volume between groups, we computed repeated measures ANOVA with group (3 levels: PD, NPOD, controls) as between subject factor and side (2 levels: right olfactory bulb volume, left olfactory bulb volume) as within subject variable. Then, we calculated univariate ANOVA analyses for each variable. Finally, we calculated Pearson correlation coefficients between volumetric measures of the olfactory bulb, olfactory function, and PD patients' clinical data. For all multiple comparisons we applied Bonferroni corrections. We set the level of significance at $p < 0.05$.

Table 6-1. Participants' characteristics

Variable	Controls (n=15)	PD patients (n=15)	NPOD patients (n=15)	P values from between group analysis
Sex (F/M)	7;8	7;8	6;9	NA
Age	66.3 ± 6.3	66.8 ± 7.3	62.8 ± 9.2	p = .31
Female	65.8 ± 7.3	64.5 ± 6.5	60.7 ± 8.7	NA
Male	66.8 ± 5.6	68.9 ± 7.8	66.0 ± 3.0	NA
Age at onset (yrs)	NA	60.5 ± 7.8	NA	NA
Disease duration (yrs)	NA	6.3 ± 2.8	NA	NA
H&Y	NA	1.6 ± 0.6 (1-3)	NA	NA
LEDD (mg)	NA	527.0 ± 211.5	NA	NA
MoCA	27.4 ± 2.5	27.0 ± 2.8	27.2 ± 2.3	p = .96
BDI	1.2 ± 1.6	6.1 ± 3.4	2.3 ± 2.9	p < .001
TDI score	38.0 ± 3.0	17.5 ± 6.9	17.3 ± 7.7	p < .001
Threshold	10.4 ± 2.4	2.2 ± 1.5	3.0 ± 3.1	p < .001
Discrimination	12.6 ± 1.6	8.5 ± 2.7	7.2 ± 3.4	p < .001
Identification	13.5 ± 1.1	7.5 ± 3.5	7.5 ± 2.4	p < .001

Data are presented as means and standard deviation of the mean. Abbreviations: H&Y = Hoehn & Yahr Stage, LEDD = Levodopa equivalent daily dose, MoCA = Montreal Cognitive Assessment, BDI = Beck Depression Inventory, TDI = summation of scores of the 3 olfactory subtests (threshold, discrimination and identification).

Machine learning

Image pre-processing and augmentation

All T2-weighted MRI scans from PD and NPOD patients (n = 197; 105 PD, 92 NPOD) that were used for the olfactory bulb measurements (6.6 ± 1.1 scans per patient; range: 5 – 9) were converted from DICOM format to PNG format using the Pydicom package (<https://pypi.org/project/pydicom/>; Mason, 2011), prior to further processing. We cropped scans of an original size of 672 x 896 pixels to a size of 150 x 150 pixels, so that the scans included the olfactory bulb and its surrounding area (Figure 6.1 A). Given the variance in the relative position of the olfactory bulb across subjects, we grouped scans based on the position of the olfactory bulb, and automatically processed and cropped these scans. See Figure 6.1B for an example of the pre-processing steps and anatomically relevant regions selected.

To increase the number of scans, we applied image augmentation techniques including random rotation (angle = 5 deg.), width shifting (upper bound = 5%), height shifting (upper bound = 5%), rescaling, shear transformation (shear intensity = 0.05) and horizontal flipping to all scans (Nalepa et al., 2019) (Figure 6.1C). Upon augmentation, we generated a total of 25 images from each original scan for a final number of 4925 scans (PD: 2625, 53.3%; NPOD: 2300, 46.7%). Augmented scans were split at the subject-level into training, validation and test sets so that all scans of one subject only appear in one set. Scans of 18 (9 PD, 9 NPOD), 6 (3 PD, 3 NPOD) and 6 subjects (3 PD, 3 NPOD) were randomly assigned to the training, validation and test sets, respectively.

Convolutional neural network

We used a CNN to classify scans as either being from a PD or a NPOD patient. The CNN comprised 7 layers including 2 convolutional layers, 2 subsampling layers, 1 flatten layer and 2 fully connected layers. The number of trainable parameters of the CNN was 5,318,946. Both convolutional layers had 32 convolution kernels and used a kernel size of 3 x 3 pixels. We set stride to 1 along both height and width, and padding was not used. The subsampling layers performed 2x2 max pooling operations with a stride of 2 to reduce the dimension of the feature maps. We applied dropout after each subsampling layer with a probability of 50% (Srivastava et al., 2014). We used a fully connected layer of 128 units, followed by dropout regularization of 50% probability and then a final output layer (Figure 6.1 D).

We used the Python programming language (version 3.7.5) and the Keras library (version 2.2.4) for the implementation and validation of the CNN. The CNN was trained with a batch size of 32 for a total of 100 epochs, using a stochastic gradient descent optimizer (learning rate = 0.0003, momentum = 0.0). We monitored the accuracy and loss incurred during the training of CNN over time across epochs (Supplementary Figure 6.6). For visualizing and highlighting the relevant regions associated with the model's output, we used Gradient-weighted Class Activation Mapping (Grad-CAM), a generalized form of Class Activation Mapping (CAM) based on the calculation of gradients from neurons of the last convolution layer of the neural network (Selvaraju et al., 2017). We superimposed all correctly identified scans and their corresponding Grad-CAM activation map, and we normalized them so that the position of the olfactory bulb would be at the same position for all these scans. We then extracted the class

discriminative regions and presented them on a white background to highlight the regions associated with the CNN's output (Figure 6.5).

Performance metrics

We used multiple performance metrics including accuracy, precision (i.e., positive predictive value, PPV), recall (i.e., sensitivity or true positive rate, TPR), specificity (i.e., true negative rate, TNR) and F1 score to systematically assess the performance of the CNN in differentiating PD and NPOD (Table 2). We further computed confusion matrices depicting true positive (TP), true negative (TN), false negative (FN) and false positive (FP) in the classification of PD and NPOD patients, for training and test sets.

Accuracy is defined as the ratio of total number of predictions that are correct, and calculated using the proportion of the true positive and true negative values:

$$\text{accuracy} = (\text{TP} + \text{TN}) / (\text{TP} + \text{TN} + \text{FP} + \text{FN})$$

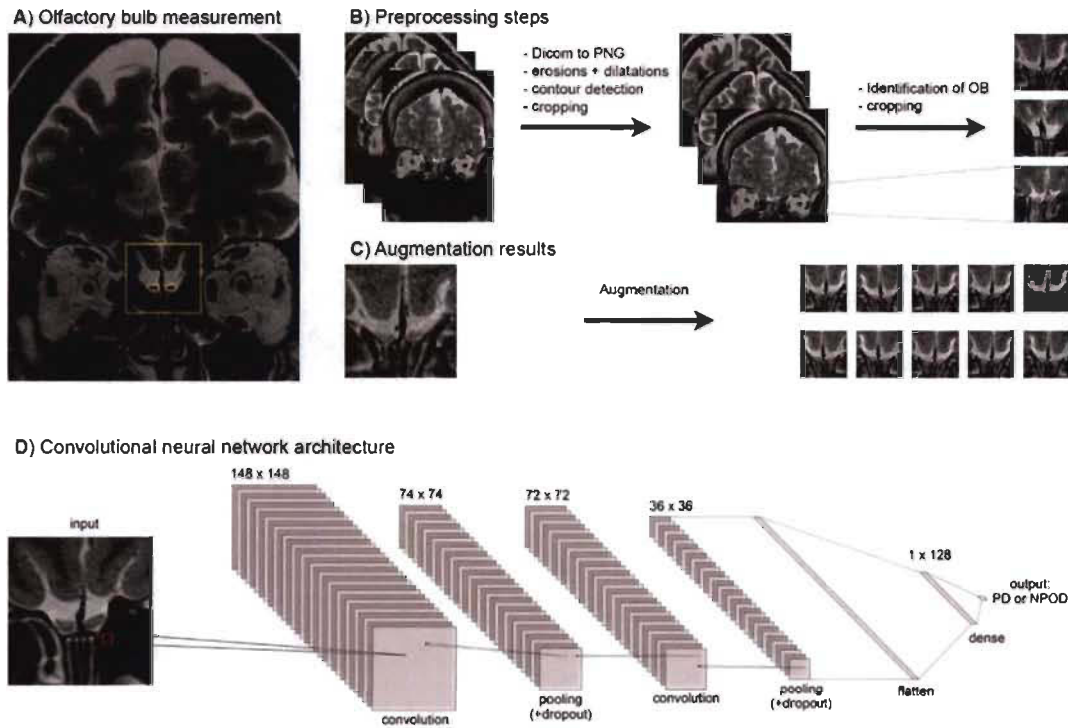
Precision is the proportion of true positive values among all the values predicted to be positive, it represents how many of the selected items are relevant $\text{precision} = \text{PPV} = \text{TP} / (\text{TP} + \text{FP})$

Recall is the proportion of true positive values that are correctly identified as such, it represents how many of the relevant items are selected: $\text{recall} = \text{sensitivity} = \text{TPR} = \text{TP} / (\text{TP} + \text{FN})$

Specificity measures the proportion of the true negatives that are correctly identified as such: $\text{specificity} = \text{TNR} = \text{TN} / (\text{TN} + \text{FP})$

The F1 score is the harmonic mean of the precision and recall: $\text{F1 score} = 2 \times (\text{precision} \times \text{recall}) / (\text{precision} + \text{recall})$.

Figure 6-1. Convolutional neural network pre-processing steps and architecture



A. Example of the olfactory bulb manual measurement and region selected for the CNN (as measured in yellow) on T2-weighted scans. B. Preprocessing steps applied on the original scans C. Example of data augmentation. D. Architecture of the convolutional neural network. OB= olfactory bulb, PD= Parkinson's disease, NPOD = Non-parkinsonian olfactory dysfunction.

Results

Behavioral results

Olfactory performance, as measured by the TDI score, revealed a significant effect of group [$F(2,42) = 44.51$; $p < .001$, $\eta^2 = .68$]. Same results were obtained for each sub-test separately as an effect of group was found for threshold [$F(2,42) = 51.30$; $p < .001$, $\eta^2 = .71$], discrimination [$F(2,42) = 16.76$; $p < .001$, $\eta^2 = .44$] and identification [$F(2,42) = 29.37$; $p < .001$, $\eta^2 = .58$]. Post hoc comparisons confirmed significantly decreased olfactory function (TDI, Threshold, Discrimination and Identification) in both PD patients and patients with NPOD

when compared to control participants (both $p < .001$), while no significant differences between PD and NPOD patients were observed.

Next, no group differences were found for cognitive function (MoCA) [$F(2, 42) = 0.04$; $p = .96$]. However, there were a significant group difference with respect to depressive symptoms (BDI) [$F(2, 42) = 11.32$; $p < .001$, $\eta^2 = .35$], with PD patients being significantly more depressed than both controls ($p < .001$) and NPOD patients ($p = .003$)

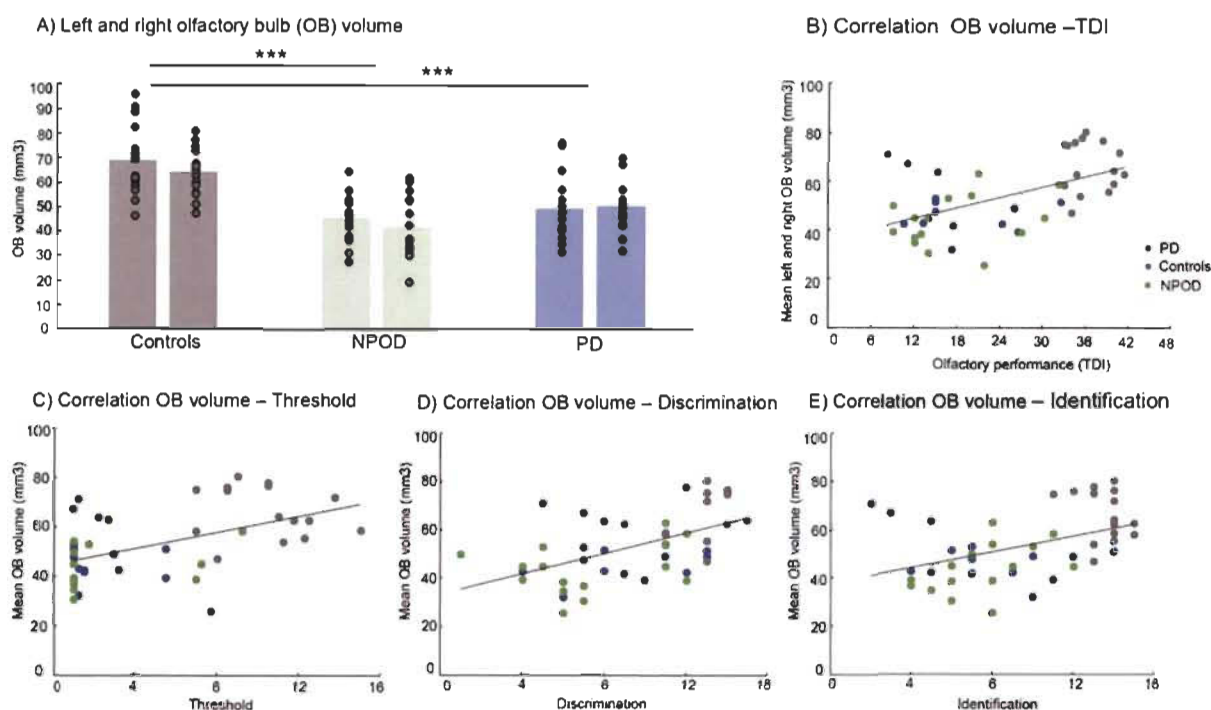
Olfactory bulb volume

For the olfactory bulb volume analysis, ANOVA revealed a main effect of group [$F(2,42) = 18.49$; $p < .001$, $\eta^2 = .47$], but we did not find an effect of left/right side [$F(1,42) = 2.39$; $p = .13$] nor an interaction between side and group [$F(2,42) = 1.06$; $p = .36$]. Separate univariate ANOVA confirmed an effect of group for both the right [$F(2,42) = 14.09$; $p < .001$, $\eta^2 = .40$] and the left olfactory bulb [$F(2,42) = 15.98$; $p < .001$, $\eta^2 = .43$]. Post hoc test confirmed a significantly smaller bulb volume in both PD patients (right: $p < .001$; left: $p < .001$) and NPOD patients (right: $p = .003$; left: $p < .001$) when compared to controls. Again, we did not find any differences between PD patients and NPOD patients.

Further, when analyzing all participants together we found a significant correlation between olfactory bulb volume and global olfactory score (right: $r = .492$, $p = .015$; left: $r = .517$, $p < .001$, mean right-left volume: $r = .538$, $p < .001$), as well as for all the subtests, namely threshold (right: $r = .473$, $p = .015$; left: $r = .474$, $p = .015$, mean right-left volume: $r = .506$, $p < .001$), discrimination (right: $r = .466$, $p = .015$; left: $r = .531$, $p < .001$, mean right-left volume: $r = .530$, $p < .001$), but for identification we found only a correlation for the left side and the mean olfactory bulb volume (right: $r = .387$, $p = .135$; left: $r = .444$, $p = .03$, mean right-left volume: $r = .442$, $p = .03$) (Figure 6.2).

When we analyzed the PD patients' group on its own, we found no correlation between olfactory bulb volume (right, left or mean right-left volume) and disease duration, medication (LEDD), cognitive MoCA score, BDI score, disease stage (H&Y), or asymmetry of symptoms (right/left).

Figure 6-2. Olfactory bulb volume and correlations with olfactory function



A. Inter-group comparison of average volumes of the left and right olfactory bulb respectively. Each dot represents one subject. B. Correlation between the average left-right olfactory bulb volume and olfactory performance as measured by the TDI score (Threshold, Discrimination, and Identification tests) of the 3 groups, and separately for C. threshold, D. discrimination and E. identification score. OB= olfactory bulb, PD = Parkinson's disease, NPOD = Non-parkinsonian olfactory dysfunction.

Results of CNN in the classification of PD and NPOD patients

We observed a training accuracy of 86.3% and a test accuracy of 88.3% when classifying PD patients from NPOD patients. Precision, recall, specificity and F1 score are presented in Table 6.2. An example of scan-level classification is shown in Figure 6.3. Confusion matrices illustrating the predicted label and true label of the CNN for the binary classification task are presented in Figure 6.4. According to the confusion matrices, the CNN model led to (a) a correct diagnosis of 2612 scans (86.3%) and a misdiagnosis of 413 scans (244 PD and 169 NPOD) out

of 3025 scans of the training set, and (b) a correct diagnosis of 795 (88.3%) scans and a misdiagnosis of 105 scans (52 PD, 53 NPOD) out of 900 scans of the test set (Figure 6.4)

The average of the correctly identified scans and the corresponding Grad-CAM depicting the class-discriminative regions (Figure 6.5) shows that the olfactory bulb and its surrounding areas, especially the region above the olfactory bulb that extend into the olfactory sulcus are more looked at by the CNN to discriminate between groups.

Figure 6-3. Example of scan-level classification of the test set



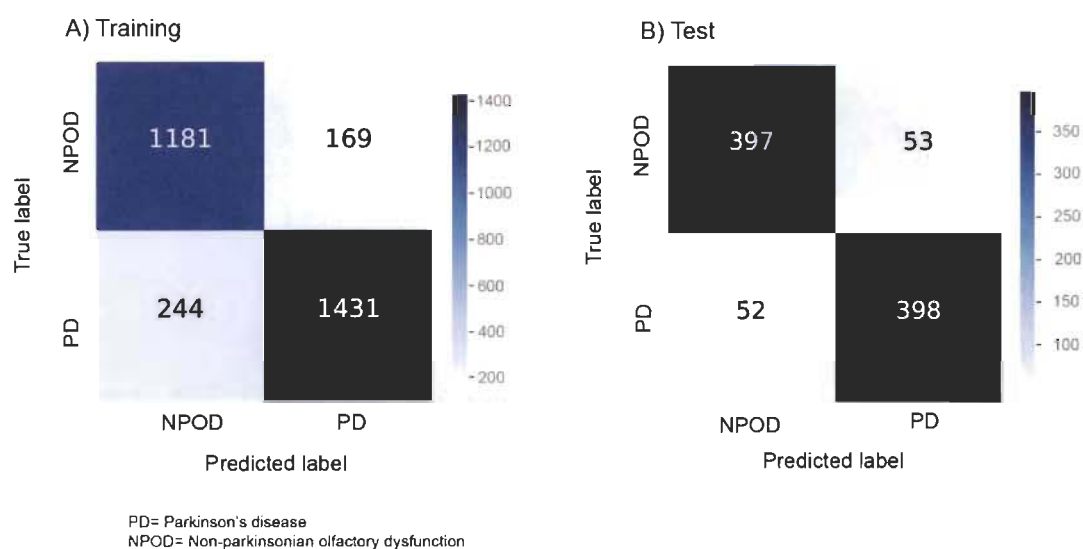
The 20 scans shown were not seen by the CNN previously. Green: correctly predicted scan, red: incorrectly predicted scan. PD = Parkinson's disease, NPOD = Non-parkinsonian olfactory dysfunction

Table 6-2. Scan-level performance of the CNN when classifying the training, and test samples.

	Accuracy	Loss	Precision (PPV)	Recall (Sensitivity)	Specificity	F1 score
Training	86.3%	0.4127	89.4%	85.4%	87.5%	87.4%
Test	88.3%	0.3365	88.2%	88.4%	88.2%	88.3%

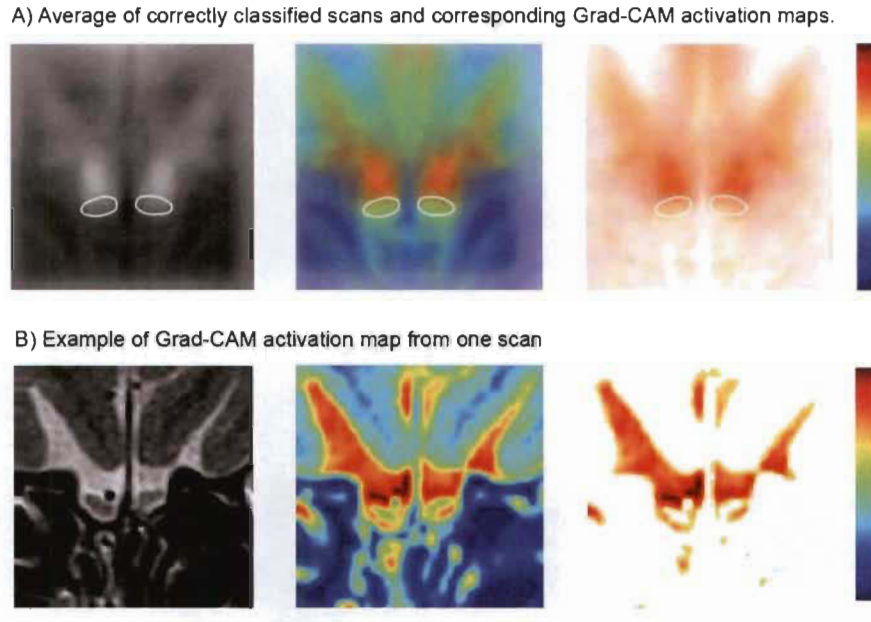
PPV: positive predictive value.

Figure 6-4. Result of the CNN represented in confusion matrices



*Confusion matrices of the CNN representing the number of correctly and incorrectly predicted scans in the classification of patients with Parkinson's disease (PD) and patients with non-parkinsonian olfactory dysfunction (NPOD) in **A.** the training and **B.** the test sets.*

Figure 6-5. Grad-CAM activation maps



A. Average of correctly classified scans of the test set (left) with superimposition of the Grad-CAM activation maps (middle) and the class-discriminative regions presented on a white background (right). Grad-CAM activation map shows the class-discriminative regions and the red color corresponds to higher relevance to the CNN's output. The approximate position of the olfactory bulb is indicated by the white ovals. B. Individual example of one scan and the corresponding Grad-CAM activation map.

Discussion

In the present study, we report the results of an investigation of olfactory bulb structure and surrounding areas in PD patients when specifically compared to patients with non-parkinsonian olfactory dysfunctions (NPOD) and healthy control participants. Our results confirm the presence of a reduced olfactory bulb volume in both PD patients and NPOD patients when compared to control participants. While manual measures from olfactory bulb were not able to differentiate PD patients from NPOD patients, a CNN applied to scans of the olfactory bulb and its surroundings yielded a training accuracy of 86.3% and a test accuracy of 88.3% in the discrimination between PD and NPOD patients.

The result of a reduced olfactory bulb volume in PD patients is concordant with previous studies (Brodoehl et al., 2012; Chen et al., 2014; Hang et al., 2015; Li et al., 2016; Tanik et al., 2016; Wang et al., 2011) and in line with various alterations of the olfactory bulb including neuronal loss (Pearce et al., 1995). Even though there are some inconsistencies as several studies did not show significant decrease in olfactory bulb volume in PD patients when compared to control participants (Altinayar et al., 2014; Hakyemez et al., 2013; Hummel et al., 2010; Mueller et al., 2005a; Paschen et al., 2015), our results confirmed that the olfactory bulb volume is indeed reduced in PD patients, in line with a meta-analysis (Li et al., 2016). Similarly, NPOD patients, including post-viral OD and sinonasal OD, exhibited reduced olfactory bulb volume when compared to controls, which is also consistent with published literature (Gudziol et al., 2009; Han et al., 2017; Mueller et al., 2005b; Rombaux et al., 2006a; Rombaux et al., 2008). Nevertheless, we did not identify any differences between olfactory bulb volumes of PD and NPOD patients, when using manual volumetric measurements. In fact, although the underlying pathomechanisms of reduced olfactory bulb volume in PD and NPOD are different, both groups showed a similar degree of olfactory loss, as found in our participants and reported by other studies (Tremblay et al., 2017; Whitcroft et al., 2017). Further, we found no correlation between olfactory bulb volume and disease stage or severity which is in line with previous reports that did not show any correlation with either disease stage, disease duration, age of disease onset, lateralization of initial motor symptoms, left-right limb motion function score or cognitive status in PD (Altinayar et al., 2014; Brodoehl et al., 2012; Chen et al., 2014; Mueller et al., 2005a; Paschen et al., 2015). Our results are in line with the notion of olfactory bulb volume to be a neuroanatomical correlate of olfactory function (Buschhuter et al., 2008; Hummel et al., 2015), independently of any underlying condition that may affect its volume. Interestingly, a recent study however suggests that overall chemosensory function such as flavor perception may be one method to behaviorally distinguish between PD and NPOD patients (Aubry-Lafontaine et al., 2020).

In contrast to manual measurements, when applying deep learning models to the same scans, our model was able to correctly discriminate between PD patients and NPOD patients with an accuracy of 88.3%, a recall of 88.4% and a precision of 88.2%, when MR images of the test set were classified by the CNN. Taken together, these results may comprise a crucial step

towards the development of early diagnostic tools of PD based on OD and they emphasize the potential of such algorithms to extract information from medical images of patients with OD. Future studies should investigate if similar techniques can be used in outcome prediction of subjects with a high risk to develop PD, such as patients suffering from rapid eye movement (REM) sleep behavioral disorder (RBD), characterized by loss of normal atonia of REM sleep, in which up to 90% of patients will develop PD (Postuma et al., 2015). Other non-motor symptoms of PD should also be taken into consideration because of their association with OD and their potential in predicting the development of PD (Masala et al., 2018).

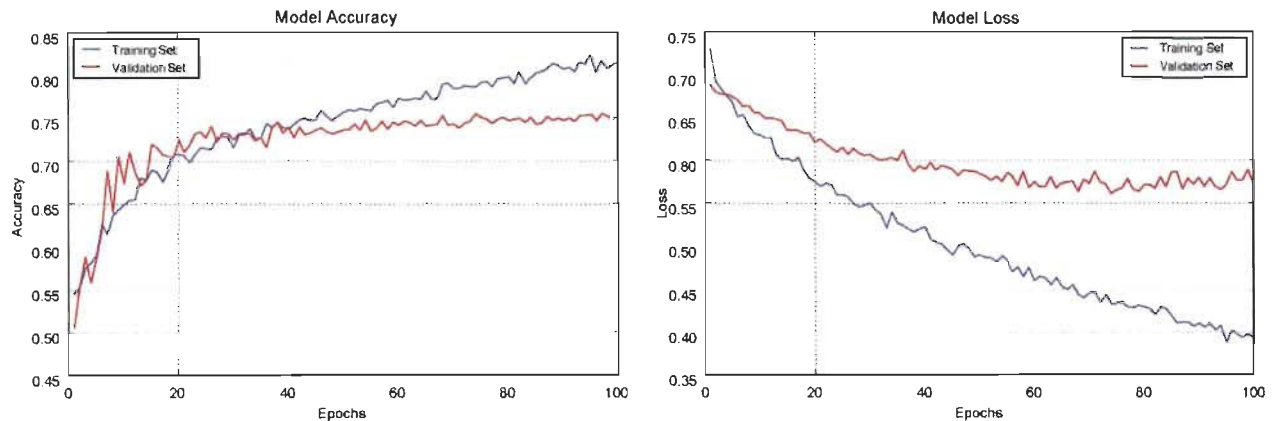
With the aim of trying to better understand which features of the scans the CNN were using to differentiate between groups, we averaged the Grad-CAM activation maps of the correctly classified scans of the test set (Figure 6.5). Even though these images are blurry as a result of averaging across multiple scans, and therefore must be interpreted carefully, it still gives us information regarding the features that are the most looked at by the CNN in the classification. These regions include the olfactory bulb and its boundary, and more importantly, the area right above the olfactory bulb that extends into the olfactory sulcus. Therefore, we hypothesize the CNN to also rely on additional adjacent orbitofrontal cerebral structures such as (a) the olfactory sulcus, (b) the gyrus rectus, and (c) and the medial orbitofrontal cortex (OFC). All these structures are known to be involved in olfactory processing (Lundstrom et al., 2011) and the size of these structures reflects olfactory function, in analogy to the olfactory bulb. In fact, a correlation between olfactory function and the depth of the right olfactory sulcus (Hummel et al., 2003), the thickness and volume the medial OFC and the area around the olfactory sulcus (Frasnelli et al., 2010) as well as the of the gyrus rectus (Delon-Martin et al., 2013) were reported. Further, two studies reported significantly shallower olfactory sulci in PD patients when compared to healthy controls (Tanik et al., 2016; Wang et al., 2011), even though another study reported no difference (Hang et al., 2015), and no correlations between the olfactory sulcus depth and olfactory function (Hang et al., 2015; Wang et al., 2011). Nevertheless, these are comparisons between PD patients and healthy control participants, and thus not with participants showing similar olfactory function as PD patients. Reduced olfactory sulcus along with frontal cortical atrophy as reported in PD (Lee et al., 2014) might lead to a greater space between the olfactory bulb and the frontal cortex. However, cortical atrophy was

also reported in patients with anosmia and hyposmia from various etiology when compared to controls (Bitter et al., 2010a; Bitter et al., 2010b). To date, no direct comparison in cortical volume or density was made between PD patients and patients with NPOD. Olfactory bulb related measurement is of interest in PD patients and may give more information on the underlying pathology as the olfactory bulb volume was found to be correlated with the putamen volume and the olfactory sulcus correlated to the hippocampal volume (Tanik et al., 2016). Further investigating the olfactory bulb and sulcus and most importantly the space between the olfactory bulb and the above cortex, by developing an approach to measure this specific region, might bring further insight into the study of PD-related olfactory loss and may help to differentiate PD-related OD from other forms of OD in early stages of the disease.

We acknowledge that we tested a limited number of participants and these results must be interpreted with care. The total number of scans used in the present study is small for deep learning techniques and the model may not generalize well to additional clinical data. Thus, the model should be trained and validated with more data to be potentially used as an assistive diagnostic tool in the future. Further, all scans used in the manual measurement of the olfactory bulb volume were used to train or test the CNN to maximize the number of scans, therefore some scans in which the visualization of olfactory bulb was not optimal (for instance, scans depicting more distal or proximal parts of the olfactory bulb) may have confounded the results, leading to compromised accuracy. In addition, we did not have access to the participants' UPDRS scores which would have been interesting to better characterize the included PD population and to further assess potential correlation with disease severity, even though we found no correlation with other clinical data. Future studies should be conducted to validate these results in larger sample sizes and in better characterized cohorts including patients with prodromal PD. To do so, T2-weighted scans of the olfactory bulb should be included in existing research and clinical protocols.

In conclusion, olfactory bulb volume was found to be reduced in both PD-related OD and NPOD when compared to control participants but was not different between PD and NPOD patients. In the meantime, considerable accuracy was achieved when a CNN was used to differentiate olfactory bulb scans from PD and NPOD patients, and therefore may lead to refined early diagnosis, although this approach still requires further validation.

Figure 6-6 : Supplementary figure



Performance of the convolutional neural network as indicated by accuracy and loss per epoch, over the course of model training.

Acknowledgements

The authors would like to thank Daphnée Poupon and Elbrich Postma for sharing materials for the olfactory bulb volume measurements. We also thank Emilie Aubry-Lafontaine, Lison Guibert-Bérenghier and Andres Lizzagara, as well as the IUGM staff for their assistance with the testing procedures. We also thank the Quebec Parkinson Network and all participants included in this study.

Funding

This work was supported by grants from the Quebec Bio-imaging Network, the Fonds de la recherche du Québec – Santé, the Natural Sciences and Engineering Council of Canada and the Université du Québec in Trois-Rivières.

Conflict of Interest

Authors declare no conflict of interest

Data availability statement

Data will be made available on the database of the University of Quebec at Trois-Rivières upon publication.

References

- Altınayar S, Oner S, Can S, Kizilay A, Kamisli S, Sarac K. 2014. Olfactory dysfunction and its relation olfactory bulb volume in Parkinson's disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 18: 3659-64.
- Altundag A, Salihoglu M, Tekeli H, Saglam M, Cayonu M, Hummel T. 2014. Lateralized differences in olfactory function and olfactory bulb volume relate to nasal septum deviation. *J Craniofac Surg.* 25: 359-62, Doi:10.1097/scs.0000000000000617.
- Askar SM, Elnashar IS, El-Anwar MW, Amer HS, El Shawadfy MA, Hosny SM, et al. 2015. Ipsilateral reduced olfactory bulb volume in patients with unilateral nasal obstruction. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 152: 959-63, Doi:10.1177/0194599815573196.
- Aubry-Lafontaine E, Tremblay C, Durand-Martel P, Dupre N, Frasnelli J. 2020. Orthonasal, but not Retronasal Olfaction Is Specifically Impaired in Parkinson's Disease. *Chem Senses.* 45: 401-406, Doi:10.1093/chemse/bjaa024.
- Beach TG, Adler CH, Lue L, Sue LI, Bachalakuri J, Henry-Watson J, et al. 2009a. Unified staging system for Lewy body disorders: correlation with nigrostriatal degeneration, cognitive impairment and motor dysfunction. *Acta Neuropathol.* 117: 613-34, Doi:10.1007/s00401-009-0538-8.
- Beach TG, White CL, 3rd, Hladik CL, Sabbagh MN, Connor DJ, Shill HA, et al. 2009b. Olfactory bulb alpha-synucleinopathy has high specificity and sensitivity for Lewy body disorders. *Acta Neuropathol.* 117: 169-74, Doi:10.1007/s00401-008-0450-7.
- Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. 1961. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry.* 4: 561-71.
- Berardelli A, Wenning GK, Antonini A, Berg D, Bloem BR, Bonifati V, et al. 2013. EFNS/MDS-ES/ENS [corrected] recommendations for the diagnosis of Parkinson's disease. *Eur J Neurol.* 20: 16-34, Doi:10.1111/ene.12022.
- Bitter T, Bruderle J, Gudziol H, Burmeister HP, Gaser C, Guntinas-Lichius O. 2010a. Gray and white matter reduction in hyposmic subjects--A voxel-based morphometry study. *Brain Res.* 1347: 42-7, Doi:10.1016/j.brainres.2010.06.003.
- Bitter T, Gudziol H, Burmeister HP, Mentzel HJ, Guntinas-Lichius O, Gaser C. 2010b. Anosmia leads to a loss of gray matter in cortical brain areas. *Chem Senses.* 35: 407-15, Doi:10.1093/chemse/bjq028.
- Bowman GL. 2017. Biomarkers for early detection of Parkinson disease: A scent of consistency with olfactory dysfunction. *Neurology.* 89: 1432-1434, Doi:10.1212/wnl.0000000000004383.
- Braak H, Del Tredici K, Rub U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E. 2003a. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging.* 24: 197-211.

- Braak H, Rub U, Gai WP, Del Tredici K. 2003b. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *J Neural Transm (Vienna)*. 110: 517-36, Doi:10.1007/s00702-002-0808-2.
- Brodoehl S, Klingner C, Volk GF, Bitter T, Witte OW, Redecker C. 2012. Decreased olfactory bulb volume in idiopathic Parkinson's disease detected by 3.0-tesla magnetic resonance imaging. *Mov Disord*. 27: 1019-25, Doi:10.1002/mds.25087.
- Burmeister HP, Baltzer PA, Möslin C, Bitter T, Gudziol H, Dietzel M, et al. 2011. Reproducibility and repeatability of volumetric measurements for olfactory bulb volumetry: which method is appropriate? An update using 3 Tesla MRI. *Acad Radiol*. 18: 842-9, Doi:10.1016/j.acra.2011.02.018.
- Buschhüter D, Smitka M, Puschmann S, Gerber JC, Witt M, Abolmaali ND, et al. 2008. Correlation between olfactory bulb volume and olfactory function. *Neuroimage*. 42: 498-502, Doi:10.1016/j.neuroimage.2008.05.004.
- Chen S, Tan H-y, Wu Z-h, Sun C-p, He J-x, Li X-c, et al. 2014. Imaging of olfactory bulb and gray matter volumes in brain areas associated with olfactory function in patients with Parkinson's disease and multiple system atrophy. *European Journal of Radiology*. 83: 564-570, Doi:10.1016/j.ejrad.2013.11.024.
- Cleland TA, Linster C. 2019. Central olfactory structures. *Handb Clin Neurol*. 164: 79-96, Doi:10.1016/b978-0-444-63855-7.00006-x.
- Delon-Martin C, Plailly J, Fonlupt P, Veyrac A, Royet JP. 2013. Perfumers' expertise induces structural reorganization in olfactory brain regions. *Neuroimage*. 68: 55-62, Doi:10.1016/j.neuroimage.2012.11.044.
- Doty RL. 2008. The olfactory vector hypothesis of neurodegenerative disease: is it viable? *Ann Neurol*. 63: 7-15, Doi:10.1002/ana.21327.
- Doty RL. 2012. Olfactory dysfunction in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol*. 8: 329-39, Doi:10.1038/nrneurol.2012.80.
- Frasnelli J, Lundstrom JN, Boyle JA, Djordjevic J, Zatorre RJ, Jones-Gotman M. 2010. Neuroanatomical correlates of olfactory performance. *Exp Brain Res*. 201: 1-11, Doi:10.1007/s00221-009-1999-7.
- Frasnelli J, Fark T, Lehmann J, Gerber J, Hummel T. 2013. Brain structure is changed in congenital anosmia. *Neuroimage*. 83: 1074-80, Doi:10.1016/j.neuroimage.2013.07.070.
- Fullard ME, Morley JF, Duda JE. 2017. Olfactory Dysfunction as an Early Biomarker in Parkinson's Disease. *Neurosci Bull*. 33: 515-525, Doi:10.1007/s12264-017-0170-x.

- Gan-Or Z, Rao T, Leveille E, Degroot C, Chouinard S, Cicchetti F, et al. 2020. The Quebec Parkinson Network: A Researcher-Patient Matching Platform and Multimodal Biorepository. *J Parkinsons Dis.* 10: 301-313, Doi:10.3233/JPD-191775.
- Gudziol V, Buschhüter D, Abolmaali N, Gerber J, Rombaux P, Hummel T. 2009. Increasing olfactory bulb volume due to treatment of chronic rhinosinusitis--a longitudinal study. *Brain.* 132: 3096-101, Doi:10.1093/brain/awp243.
- Haehner A, Rodewald A, Gerber JC, Hummel T. 2008. Correlation of olfactory function with changes in the volume of the human olfactory bulb. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 134: 621-4, Doi:10.1001/archotol.134.6.621.
- Haehner A, Boesveldt S, Berendse HW, Mackay-Sim A, Fleischmann J, Silburn PA, et al. 2009. Prevalence of smell loss in Parkinson's disease--a multicenter study. *Parkinsonism Relat Disord.* 15: 490-4, Doi:10.1016/j.parkreldis.2008.12.005.
- Haehner A, Masala C, Walter S, Reichmann H, Hummel T. 2019. Incidence of Parkinson's disease in a large patient cohort with idiopathic smell and taste loss. *J Neurol.* 266: 339-345, Doi:10.1007/s00415-018-9135-x.
- Hakyemez HA, Veyseller B, Ozer F, Ozben S, Bayraktar GI, Gurbuz D, et al. 2013. Relationship of olfactory function with olfactory bulb volume, disease duration and Unified Parkinson's disease rating scale scores in patients with early stage of idiopathic Parkinson's disease. *J Clin Neurosci.* 20: 1469-70, Doi:10.1016/j.jocn.2012.11.017.
- Han P, Whitcroft KL, Fischer J, Gerber J, Cuevas M, Andrews P, et al. 2017. Olfactory brain gray matter volume reduction in patients with chronic rhinosinusitis. *Int Forum Allergy Rhinol.* 7: 551-556, Doi:10.1002/alr.21922.
- Han P, Winkler N, Hummel C, Hähner A, Gerber J, Hummel T. 2018. Alterations of Brain Gray Matter Density and Olfactory Bulb Volume in Patients with Olfactory Loss after Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma.* 35: 2632-2640, Doi:10.1089/neu.2017.5393.
- Hang W, Liu G, Han T, Zhang P, Zhang J. 2015. [Olfactory function in patients with idiopathic Parkinson's disease]. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi.* 50: 20-4.
- Harding AJ, Stimson E, Henderson JM, Halliday GM. 2002. Clinical correlates of selective pathology in the amygdala of patients with Parkinson's disease. *Brain.* 125: 2431-2445, Doi:10.1093/brain/awf251.
- Hawkes CH, Del Tredici K, Braak H. 2007. Parkinson's disease: a dual-hit hypothesis. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 33: 599-614, Doi:10.1111/j.1365-2990.2007.00874.x.
- Hawkes CH, Del Tredici K, Braak H. 2010. A timeline for Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 16: 79-84, Doi:10.1016/j.parkreldis.2009.08.007.

- Hirschauer TJ, Adeli H, Buford JA. 2015. Computer-Aided Diagnosis of Parkinson's Disease Using Enhanced Probabilistic Neural Network. *J Med Syst.* 39: 179, Doi:10.1007/s10916-015-0353-9.
- Huart C, Rombaux P, Hummel T. 2013. Plasticity of the human olfactory system: the olfactory bulb. *Molecules.* 18: 11586-600, Doi:10.3390/molecules180911586.
- Huart C, Rombaux P, Hummel T. 2019. Neural plasticity in developing and adult olfactory pathways - focus on the human olfactory bulb. *J Bioenerg Biomembr.* 51: 77-87, Doi:10.1007/s10863-018-9780-x.
- Hummel T, Sekinger B, Wolf SR, Pauli E, Kobal G. 1997. 'Sniffin' sticks': olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chem Senses.* 22: 39-52, Doi:10.1093/chemse/22.1.39.
- Hummel T, Damm M, Vent J, Schmidt M, Theissen P, Larsson M, et al. 2003. Depth of olfactory sulcus and olfactory function. *Brain Res.* 975: 85-9, Doi:10.1016/s0006-8993(03)02589-7.
- Hummel T, Kobal G, Gudziol H, Mackay-Sim A. 2007. Normative data for the "Sniffin' Sticks" including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an upgrade based on a group of more than 3,000 subjects. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 264: 237-43, Doi:10.1007/s00405-006-0173-0.
- Hummel T, Witt M, Reichmann H, Welge-Luessen A, Haehner A. 2010. Immunohistochemical, volumetric, and functional neuroimaging studies in patients with idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 289: 119-22, Doi:10.1016/j.jns.2009.08.026.
- Hummel T, Urbig A, Huart C, Duprez T, Rombaux P. 2015. Volume of olfactory bulb and depth of olfactory sulcus in 378 consecutive patients with olfactory loss. *J Neurol.* 262: 1046-51, Doi:10.1007/s00415-015-7691-x.
- Hummel T, Whitcroft K, Andrews P, Altundag A, Cinghi C, Costanzo R, et al. 2017. Position Paper on Olfactory Dysfunction. *Rhinology.* 54, Doi:10.4193/Rhin16.248.
- Karapinar Senturk Z. 2020. Early diagnosis of Parkinson's disease using machine learning algorithms. *Med Hypotheses.* 138: 109603, Doi:10.1016/j.mehy.2020.109603.
- Krizhevsky A, Sutskever I, Hinton GE. 2012. Imagenet classification with deep convolutional neural networks. In. *advances in neural information processing systems.* 1097-1105.
- Landis BN, Konnerth CG, Hummel T. 2004. A study on the frequency of olfactory dysfunction. *Laryngoscope.* 114: 1764-9, Doi:10.1097/00005537-200410000-00017.
- Lee EY, Eslinger PJ, Du G, Kong L, Lewis MM, Huang X. 2014. Olfactory-related cortical atrophy is associated with olfactory dysfunction in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 29: 1205-8, Doi:10.1002/mds.25829.

- Li J, Gu CZ, Su JB, Zhu LH, Zhou Y, Huang HY, et al. 2016. Changes in Olfactory Bulb Volume in Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 11: e0149286, Doi:10.1371/journal.pone.0149286.
- Linster C, Cleland TA. 2002. Cholinergic modulation of sensory representations in the olfactory bulb. *Neural Netw*. 15: 709-17, Doi:10.1016/s0893-6080(02)00061-8.
- Litvan I, Goldman JG, Troster AI, Schmand BA, Weintraub D, Petersen RC, et al. 2012. Diagnostic criteria for mild cognitive impairment in Parkinson's disease: Movement Disorder Society Task Force guidelines. *Mov Disord*. 27: 349-56, Doi:10.1002/mds.24893.
- Lotsch J, Ultsch A, Eckhardt M, Huart C, Rombaux P, Hummel T. 2016. Brain lesion-pattern analysis in patients with olfactory dysfunctions following head trauma. *Neuroimage Clin*. 11: 99-105, Doi:10.1016/j.nicl.2016.01.011.
- Lötsch J, Schaeffeler E, Mittelbronn M, Winter S, Gudziol V, Schwarzbacher SW, et al. 2014. Functional genomics suggest neurogenesis in the adult human olfactory bulb. *Brain Struct Funct*. 219: 1991-2000, Doi:10.1007/s00429-013-0618-3.
- Lundstrom JN, Boesveldt S, Albrecht J. 2011. Central Processing of the Chemical Senses: an Overview. *ACS Chem Neurosci*. 2: 5-16, Doi:10.1021/cn1000843.
- Masala C, Solla P, Liscia A, Defazio G, Saba L, Cannas A, et al. 2018. Correlation among olfactory function, motor symptoms, cognitive impairment, apathy, and fatigue in patients with Parkinson's disease. *J Neurol*, Doi:10.1007/s00415-018-8913-9.
- Mason D. 2011. SU-E-T-33: pydicom: an open source DICOM library. *Medical Physics*. 38: 3493-3493.
- Mazal PP, Haehner A, Hummel T. 2016. Relation of the volume of the olfactory bulb to psychophysical measures of olfactory function. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 273: 1-7, Doi:10.1007/s00405-014-3325-7.
- Mueller A, Abolmaali ND, Hakimi AR, Gloeckler T, Herting B, Reichmann H, et al. 2005a. Olfactory bulb volumes in patients with idiopathic Parkinson's disease a pilot study. *J Neural Transm (Vienna)*. 112: 1363-70, Doi:10.1007/s00702-005-0280-x.
- Mueller A, Rodewald A, Reden J, Gerber J, von Kummer R, Hummel T. 2005b. Reduced olfactory bulb volume in post-traumatic and post-infectious olfactory dysfunction. *Neuroreport*. 16: 475-8, Doi:10.1097/00001756-200504040-00011.
- Nalepa J, Marcinkiewicz M, Kawulok M. 2019. Data Augmentation for Brain-Tumor Segmentation: A Review. *Front Comput Neurosci*. 13: 83, Doi:10.3389/fncom.2019.00083.
- Nasreddine ZS, Phillips NA, Bedirian V, Charbonneau S, Whitehead V, Collin I, et al. 2005. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. *J Am Geriatr Soc*. 53: 695-9, Doi:10.1111/j.1532-5415.2005.53221.x.

- Negoias S, Pietsch K, Hummel T. 2017. Changes in olfactory bulb volume following lateralized olfactory training. *Brain Imaging Behav.* 11: 998-1005, Doi:10.1007/s11682-016-9567-9.
- Parisi L, RaviChandran N, Manaog ML. 2018. Feature-driven machine learning to improve early diagnosis of Parkinson's disease. *Expert Systems with Applications.* 110: 182-190, Doi: <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2018.06.003>
- Paschen L, Schmidt N, Wolff S, Cnyrim C, van Eimeren T, Zeuner KE, et al. 2015. The olfactory bulb volume in patients with idiopathic Parkinson's disease. *Eur J Neurol.* 22: 1068-73, Doi:10.1111/ene.12709.
- Pearce RK, Hawkes CH, Daniel SE. 1995. The anterior olfactory nucleus in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 10: 283-7, Doi:10.1002/mds.870100309.
- Postuma RB, Gagnon JF, Bertrand JA, Génier Marchand D, Montplaisir JY. 2015. Parkinson risk in idiopathic REM sleep behavior disorder: preparing for neuroprotective trials. *Neurology.* 84: 1104-13, Doi:10.1212/wnl.0000000000001364.
- Razzak MI, Naz S, Zaib A, 2018. Deep learning for medical image processing: Overview, challenges and the future. In: *Classification in BioApps.* Vol. 26, A.A. Dey N., Borra S. (eds). Springer, pp. 323-350.
- Rey NL, Wesson DW, Brundin P. 2018. The olfactory bulb as the entry site for prion-like propagation in neurodegenerative diseases. *Neurobiol Dis.* 109: 226-248, Doi:10.1016/j.nbd.2016.12.013.
- Rombaux P, Mouraux A, Bertrand B, Nicolas G, Duprez T, Hummel T. 2006a. Olfactory function and olfactory bulb volume in patients with postinfectious olfactory loss. *Laryngoscope.* 116: 436-9, Doi:10.1097/01.mlg.0000195291.36641.1e.
- Rombaux P, Mouraux A, Bertrand B, Nicolas G, Duprez T, Hummel T. 2006b. Retronasal and orthonasal olfactory function in relation to olfactory bulb volume in patients with posttraumatic loss of smell. *Laryngoscope.* 116: 901-5, Doi:10.1097/01.mlg.0000217533.60311.e7.
- Rombaux P, Potier H, Bertrand B, Duprez T, Hummel T. 2008. Olfactory bulb volume in patients with sinonasal disease. *Am J Rhinol.* 22: 598-601, Doi:10.2500/ajr.2008.22.3237.
- Rombaux P, Grandin C, Duprez T. 2009a. How to measure olfactory bulb volume and olfactory sulcus depth? *B-ENT.* 5 Suppl 13: 53-60
- Rombaux P, Martinage S, Huart C, Collet S. 2009b. Post-infectious olfactory loss: a cohort study and update. *B-ENT.* 5 Suppl 13: 89-95
- Rombaux P, Potier H, Markessis E, Duprez T, Hummel T. 2010. Olfactory bulb volume and depth of olfactory sulcus in patients with idiopathic olfactory loss. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 267: 1551-6, Doi:10.1007/s00405-010-1230-2.

- Rombaux P, Huart C, Deggouj N, Duprez T, Hummel T. 2012. Prognostic value of olfactory bulb volume measurement for recovery in postinfectious and posttraumatic olfactory loss. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 147: 1136-41, Doi:10.1177/0194599812459704.
- Ross GW, Petrovitch H, Abbott RD, Tanner CM, Popper J, Masaki K, et al. 2008. Association of olfactory dysfunction with risk for future Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 63: 167-73, Doi:10.1002/ana.21291.
- Rothermel M, Wachowiak M. 2014. Functional imaging of cortical feedback projections to the olfactory bulb. *Front Neural Circuits.* 8: 73, Doi:10.3389/fncir.2014.00073.
- Selvaraju RR, Cogswell M, Das A, Vedantam R, Parikh D, Batra D. 2017. Grad-cam: Visual explanations from deep networks via gradient-based localization. In: *Proceedings of the IEEE international conference on computer vision.* pp. 618-626.
- Seubert J, Freiherr J, Frasnelli J, Hummel T, Lundstrom JN. 2013. Orbitofrontal cortex and olfactory bulb volume predict distinct aspects of olfactory performance in healthy subjects. *Cereb Cortex.* 23: 2448-56, Doi:10.1093/cercor/bhs230.
- Shehata EM, Tomoum MO, Amer MA, Alarabawy RA, Eltomay MA. 2018. Olfactory bulb neuroplasticity: A prospective cohort study in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Clin Otolaryngol.* 43: 1528-1534, Doi:10.1111/coa.13202.
- Shinde S, Prasad S, Saboo Y, Kaushick R, Saini J, Pal PK, et al. 2019. Predictive markers for Parkinson's disease using deep neural nets on neuromelanin sensitive MRI. *Neuroimage: Clinical.* 22: 101748.
- Silveira-Moriyama L, Holton JL, Kingsbury A, Ayling H, Petrie A, Sterlacci W, et al. 2009. Regional differences in the severity of Lewy body pathology across the olfactory cortex. *Neurosci Lett.* 453: 77-80, Doi:10.1016/j.neulet.2009.02.006.
- Sivaranjini S, Sujatha C. 2019. Deep learning based diagnosis of Parkinson's disease using convolutional neural network. *Multimedia Tools and Applications.* 1-13.
- Smith TD, Bhatnagar KP. 2019. Anatomy of the olfactory system. *Handb Clin Neurol.* 164: 17-28, Doi:10.1016/b978-0-444-63855-7.00002-2.
- Srivastava N, Hinton G, Krizhevsky A, Sutskever I, Salakhutdinov R. 2014. Dropout: a simple way to prevent neural networks from overfitting. *The journal of machine learning research.* 15: 1929-1958, Doi.
- Tanik N, Serin HI, Celikbilek A, Inan LE, Gundogdu F. 2016. Associations of olfactory bulb and depth of olfactory sulcus with basal ganglia and hippocampus in patients with Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 620: 111-4, Doi:10.1016/j.neulet.2016.03.050.

Tomlinson CL, Stowe R, Patel S, Rick C, Gray R, Clarke CE. 2010. Systematic review of levodopa dose equivalency reporting in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 25: 2649-53, Doi:10.1002/mds.23429.

Tremblay C, Durand Martel P, Frasnelli J. 2017. Trigeminal system in Parkinson's disease: A potential avenue to detect Parkinson-specific olfactory dysfunction. *Parkinsonism Relat Disord.* 44: 85-90, Doi:10.1016/j.parkreldis.2017.09.010.

Tremblay C, Iravani B, Aubry Lafontaine E, Steffener J, Fischmeister FPS, Lundstrom JN, et al. 2020. Parkinson's Disease Affects Functional Connectivity within the Olfactory-Trigeminal Network. *J Parkinsons Dis.* Preprint: 1-14, Doi:10.3233/JPD-202062

Wang J, You H, Liu JF, Ni DF, Zhang ZX, Guan J. 2011. Association of olfactory bulb volume and olfactory sulcus depth with olfactory function in patients with Parkinson disease. *AJNR Am J Neuroradiol.* 32: 677-81, Doi:10.3174/ajnr.A2350.

Wang S-H, Phillips P, Sui Y, Liu B, Yang M, Cheng H. 2018. Classification of Alzheimer's disease based on eight-layer convolutional neural network with leaky rectified linear unit and max pooling. *J Med Syst.* 42: 85, Doi:10.1007/s10916-018-0932-7.

Whitcroft KL, Cuevas M, Haehner A, Hummel T. 2017. Patterns of olfactory impairment reflect underlying disease etiology. *Laryngoscope.* 127: 291-295, Doi:10.1002/lary.26229.

Yao L, Yi X, Pinto JM, Yuan X, Guo Y, Liu Y, et al. 2018. Olfactory cortex and Olfactory bulb volume alterations in patients with post-infectious Olfactory loss. *Brain Imaging Behav.* 12 (5): 1355-1362, Doi:10.1007/s11682-017-9807-7.

Yasaka K, Akai H, Kunimatsu A, Kiryu S, Abe O. 2018. Deep learning with convolutional neural network in radiology. *Jpn J Radiol.* 36: 257-272, Doi:10.1007/s11604-018-0726-3.

Yousem DM, Geckle RJ, Doty RL, Bilker WB. 1997. Reproducibility and reliability of volumetric measurements of olfactory eloquent structures. *Acad Radiol.* 4: 264-9, Doi:10.1016/s1076-6332(97)80027-x.

Yousem DM, Geckle RJ, Bilker WB, Doty RL. 1998. Olfactory bulb and tract and temporal lobe volumes. Normative data across decades. *Ann N Y Acad Sci.* 855: 546-55, Doi:10.1111/j.1749-6632.1998.tb10624.x.

Yousem DM, Geckle RJ, Bilker WB, Kroger H, Doty RL. 1999. Posttraumatic smell loss: relationship of psychophysical tests and volumes of the olfactory bulbs and tracts and the temporal lobes. *Acad Radiol.* 6: 264-72, Doi:10.1016/s1076-6332(99)80449-8.

Chapitre 7. Article 6 – Parkinson’s disease affects functional connectivity within the olfactory-trigeminal network.

Cécilia Tremblay^{1,2}, Behzad Iravani², Émilie Aubry-Lafontaine¹, Jason Steffener³, Florian Ph.S. Fischmeister⁴, Johan N. Lundström², Johannes Frasnelli^{1,5}

Publié dans le *Journal of Parkinson’s Disease*, (Tremblay *et al.*, 2020a)

Tremblay C, Iravani B, Aubry-Lafontaine E, Steffener J, Fischmeister Ph.S F., Lundstrom JN, Frasnelli J. (2020) Parkinson's Disease Affects Functional Connectivity within the Olfactory-Trigeminal Network. *J Parkinsons Dis*, Preprint, 1-14. Doi : <https://doi.org/10.3233/JPD-202062>.

Affiliations

1. Department of Anatomy, Université du Québec à Trois-Rivières, 3351 Boul. des Forges, Trois-Rivières, Québec, G9A 5H7, Canada

2. Department of Clinical Neuroscience, Karolinska Institutet, 17177, Stockholm, Sweden

3. Faculty of Health Sciences, University of Ottawa, 125 University, Ottawa, Ontario, K1N 6N5, Canada

4. Institute of Psychology, University of Graz, Graz, Austria.

5. Research Center, Sacré-Coeur Hospital of Montreal, 5400 boul. Gouin Ouest, Montréal, Québec, H4J 1C5, Canada

Contribution des auteurs

La conception, la planification de l’étude et le protocole de recherche ont été réalisé par moi-même et J. Frasnelli avec les conseils et suggestions de J. Fischmeister. J’ai été responsable de la collecte de données avec É. Aubry-Lafontaine. J. Steffener a mis en place l’équipement nécessaire pour délivrer des odeurs lors de la séance d’IRMf (ordinateur et programme). J’ai

réalisé un stage de 3 mois en Suède dans le laboratoire de J. Lundström, ayant une expertise spécifique en neuroimagerie du système olfactif, pour obtenir de l'aide pour analyser les données IRM. Le plan d'analyse et l'interprétation des résultats a été réalisé par B. Iravani, J. Lundström, J. Frasnelli, et moi-même. Les analyses des données de connectivité ont été réalisées par B. Iravani. J'ai réalisé les figures et l'analyse des données comportementales. J'ai écrit la première version du manuscrit avec l'aide de J. Frasnelli. Tous les co-auteurs ont révisé et approuvé le manuscrit.

Mise en contexte

Nous avons réalisé cette étude pour mieux comprendre nos résultats antérieurs démontrant une réponse trigéminal différent dans le trouble de l'odorat associé à la MP comparativement à d'autres troubles de l'odorat et par conséquent la présence d'une altération spécifique de l'interaction entre les systèmes olfactifs et trigéminal. Notre étude électrophysiologique suggérant potentiellement une atteinte du SNC, nous avons planifié cette étude IRM pour spécifiquement évaluer la connectivité fonctionnelle au sein du réseau chimiosensoriel, en lien avec de multiples altérations de la connectivité fonctionnelle de différents systèmes et réseaux rapportés dans la MP. L'objectif de cette étude était donc de spécifiquement étudier la connectivité fonctionnelle au sein de régions d'intérêt des systèmes olfactif et trigéminal, au repos et lors de la réalisation de tâches olfactive et trigéminal impliquant la présentation d'odeurs mixtes, ainsi que d'évaluer la modularité des réseaux fonctionnels identifiés.

Abstract

Background: Olfactory dysfunction (OD) is a frequent symptom of Parkinson's disease (PD) that appears years prior to diagnosis. Previous studies suggest that PD-related OD is different from non-parkinsonian forms of olfactory dysfunction (NPOD) as PD patients maintain trigeminal sensitivity as opposed to patients with NPOD who typically exhibit reduced trigeminal sensitivity. We hypothesize the presence of a specific alteration of functional connectivity between trigeminal and olfactory processing areas in PD.

Objective: We aimed to assess potential differences in functional connectivity within the chemosensory network in 15 PD patients and compared them to 15 NPOD patients, and to 15 controls.

Method: Functional MRI scanning session included resting-state and task-related scans where participants carried out an olfactory and a trigeminal task. We compared functional connectivity, using a seed-based correlation approach, and brain network modularity of the chemosensory network.

Results: PD patients had impaired functional connectivity within the chemosensory network while no such changes were observed for NPOD patients. No group differences were found in modularity of the identified networks. Both patient groups exhibited impaired connectivity when executing an olfactory task, while network modularity was significantly weaker for PD patients than both other groups. When performing a trigeminal task, no changes were found for PD patients, but NPOD patients exhibited impaired connectivity. Conversely, PD patients exhibited a significantly higher network modularity than both other groups.

Conclusion: In summary, the specific pattern of functional connectivity and chemosensory network recruitment in PD-related OD may explain distinct behavioral chemosensory features in PD when compared to NPOD patients and healthy controls.

Introduction

Olfactory dysfunction (OD) is a very common non-motor symptom of Parkinson's disease (PD) that appears in preclinical stages, years prior to the typical motor symptoms characterizing the disease and thus diagnosis [1-3]. This highlights the interest to use olfactory loss as a potential prodromal biomarker of PD [4]. An essential first step, however, is to differentiate PD-related OD from other forms of acquired non-parkinsonian OD (NPOD: such as post-viral, sinonasal or post-traumatic OD [5]). In this context, it is particularly interesting that PD-related OD has a specific impact on the trigeminal system which is distinct from other forms of NPOD [6, 7].

The trigeminal system is a chemosensory system that allows for the nasal and oral perception of sensations, such as the cooling of menthol, the burning or pain of chili peppers as

well as touch, pressure, and temperature that are mediated by stimulation of the trigeminal nerve [8, 9]. This system interacts closely with the olfactory system for the perception of odorants [10, 11]. Consequently, patients with NPOD typically exhibit reduced trigeminal sensitivity as well [12-15]. In contrast, PD patients do not show any such decrease in trigeminal sensitivity and perception when measured behaviorally [6, 16], but rather exhibit a distinct pattern of electrophysiological activation that is different from both patients with NPOD and healthy controls [7]. Even though the cause of this distinctiveness is not fully understood, it suggests that PD specifically impairs the neural interaction between the trigeminal and the olfactory systems.

The olfactory and the trigeminal system interact at central levels and mutually enhance and suppress each other [17-19]. As a consequence, patients with anosmia typically show smaller central activation in response to trigeminal stimulation [13]. A possible neurobiological explanation is the overlap in central activation patterns between both sensory systems, especially in piriform cortex, insula, orbitofrontal cortex and middle frontal gyrus [20-22]. The connections between trigeminal and olfactory centers are therefore of prime interest if one aims at understanding how loss of olfactory function, PD-related or not, affects trigeminal sensitivity. To do so, functional connectivity characterizes networks, i.e., neural interactions amongst brain regions, and therefore allows to elucidate the mechanisms underlying human brain function in health and their changes in disease [23]. PD impairs several resting-state networks that include motor, striatal, cortical, limbic and sensorimotor areas [24-28], which may provide reliable biomarkers to monitor functional changes of PD [25, 29]. Alterations in functional connectivity patterns are associated with the severity of motor deficits [26, 30] but also to non-motor symptoms frequently observed in PD, such as cognitive impairment and dementia [31, 32], depression [33], dysphagia [34], REM Sleep Behavior Disorder [35], misperception and hallucinations [36], and olfactory loss [37-40]. Even though we do not yet completely understand how brain network changes and neurodegeneration are related, resting-state fMRI studies suggest a link between alterations of functional connectivity and the clinical phenotype [29,41]. This is further supported by longitudinal studies that revealed a disruption of functional connectivity [42] and decline of resting-state network integrity [43] as PD progresses, similar

to what is observed in Alzheimer's [44]. Functional connectivity may therefore elucidate how PD affects trigeminal-olfactory brain networks differently compared to that of NPOD patients.

This study aimed to assess PD-specific alterations in functional connectivity within the network responsible for processing of chemosensory information, both during chemosensory tasks and at resting-state, by comparing PD patients with NPOD patients and healthy controls. More specifically, we aimed to assess functional connectivity between olfactory and trigeminal brain processing areas using a seed-based correlation approach and network organization using a community detection approach at (1) resting-state and (2) following chemosensory stimulation. Importantly, during chemosensory stimulation, participants carried out tasks that relied on (2a) olfactory or (2b) trigeminal features of mixed olfactory-trigeminal stimuli, i.e., stimuli that activate both the olfactory and the trigeminal system [11].

In line with previous reports of a profound alteration of functional connectivity due to PD, we hypothesized that PD alters the chemosensory network in a disease specific manner, in contrast to NPOD which causes no direct alterations to the brain [45]. Specifically, we expected changes in resting-state connectivity in PD patients, but not in NPOD. However, during stimulation, we expected both patient groups to exhibit reduced connectivity between olfactory processing areas when performing an olfactory task as the result of impaired olfactory function in both groups. In contrast, we expected no connectivity changes in PD patients when performing a trigeminal task, as opposed to NPOD patients, in line with the unaltered trigeminal sensitivity in PD. Moreover, we further expected effects on the modularity of these networks. Modularity is a property of brain networks and describes to what extent modules are distinguishable within a network, i.e., brain regions forming a module have a strong functional connection between themselves but are sparsely connected with other modules [46]. Since behaviorally PD patients have a dissociation between olfactory and trigeminal sensitivity, we expect olfactory and trigeminal modules to be less connected, resulting in higher modularity in this group, in line with the notion of altered modular organization of several brain functional networks and consequently increased modularity in PD [31, 47].

Methods

Participants

A total of 45 participants completed the study of the total of 48 enrolled; three participants couldn't complete the study and were excluded, 2 patients were claustrophobic, and one had a severe tremor and could not complete the scanning session.

We included 15 PD patients recruited through the Quebec Parkinson Network and the local PD association. Patients were diagnosed with PD according to the United Kingdom PD Society Brain Bank diagnostic criteria [48]. All Parkinson patients were on stable anti-Parkinsonian medication. Patients with unclear diagnosis or symptoms compatible with an atypical Parkinsonian syndrome were excluded, as were patients with nasal pathology that might have caused concurrent OD non-related to the disease (such as sinonasal pathologies, head trauma, or viral infections) [5].

Furthermore, we included 15 patients with NPOD that were recruited from our lab database of participants. The probable cause of OD was subjectively evaluated in an interview with the patient and using a questionnaire based on the position paper on OD [5]. We only included patients with post-infectious olfactory loss ($n=10$) and olfactory loss due to sinonasal disease ($n=5$), as idiopathic olfactory loss may be associated with an elevated risk of developing PD [49], post-traumatic olfactory loss may be associated with neural damages unrelated to the OD [50], and congenital anosmia is associated with altered cerebral structure [51]. The mean duration of OD was 10 ± 9 years.

Finally, we enrolled 15 control participants from the community. They were matched in terms of age and sex to PD patients and they were in good general health with a normal sense of smell.

There was no significant differences in age between the 3 groups [One way ANOVA: $F(2, 42) = 1.18$; $p = .31$]. We further ascertained olfactory status by means of the "Sniffin Sticks" test (Burghart, Wedel, Germany), including olfactory detection threshold, odor quality discrimination and cued identification tasks [52,53]. Univariate ANOVA revealed an effect of group [$F(2,42) = 44.51$; $p < .001$, $\eta^2 = .68$] and post hoc comparisons confirmed lower olfactory function in both PD patients and NPOD patients when compared to controls (both $p < .001$), but no difference between PD patients and NPOD patients. Next, screening for cognitive

impairment using the Montreal Cognitive assessment (MoCA) [54] did not show any group differences [One way ANOVA: $F(2, 42) = 0.04$; $p = .96$]. However, there were a significant group difference in respect of depressive symptoms, as assessed using the Beck Depression Inventory (BDI) questionnaire [55] [One way ANOVA, $F(2, 42) = 11.32$; $p < .001$, $\eta^2 = .35$], with PD patients being significantly more depressed than both controls ($p < .001$) and NPOD patients ($p = .003$). See table 1 for participant's characteristics and table 2 for PD patients' individual profile.

All aspects of the study were performed in accordance with the Declaration of Helsinki on biomedical research involving human subjects. The study protocol was approved by the local ethics committees (Research Center of the Institut Universitaire de Gériatrie de Montréal at University of Montreal; at University of Quebec at Trois-Rivières). After being thoroughly informed on the study protocol, participants provided written consent prior to their inclusion in the study. All participants took part in an hour and a half behavioral testing session and an hour scanning session including structural and functional MRI imaging. Both sessions either took place in the same day or in two separates days according to the participant's choice.

Table 7-1. Participants' characteristics

Variable	Controls (n=15)	PD patients (n=15)	NPOD patients (n=15)
Sex (F/M)	7;8	7;8	6;9
Age	66.3 ± 6.3	66.8 ± 7.3	62.8 ± 9.2
Female	65.8 ± 7.3	64.5 ± 6.5	60.7 ± 8.7
Male	66.8 ± 5.6	68.9 ± 7.8	66.0 ± 3.0
Age at onset (yrs)	NA	60.5 ± 7.8	NA
Disease duration (yrs)	NA	6.3 ± 2.8	NA
Hoehn & Yahr Stage	NA	1.6 ± 0.6 (1-3)	NA
LEDD (mg)	NA	527.0 ± 211.5 (150-950)	NA
MoCA test	27.4 ± 2.5	27.0 ± 2.8	27.2 ± 2.3
BDI	1.2 ± 1.6	6.1 ± 3.4	2.3 ± 2.9
TDI score	38.0 ± 3.0	17.5 ± 6.9	17.3 ± 7.7

Data are shown as means and standard deviation. LEDD, Levodopa equivalent daily dose; MoCA, Montreal Cognitive Assessment; BDI, Beck Depression Inventory; TDI, summation of the 3 olfactory subtests; threshold, discrimination and identification.

Table7-2. Demographic, non-motor symptoms, and co-morbidities information for each PD patient

Age	80	59	65	59	66	75	72	75	69	64	59	71	73	56	60
Sex	m	m	m	M	m	m	m	m	f	f	f	f	f	f	f
Stage H&Y	1	2	1	1	1	2	2	1.5	2.5	1	2	2	3	1	1.5
Medication LEDD	400	550	787	325	488	733	150	600	450	500	950	600	261	-	584
Disease duration (yrs)	4	7	3	6	4	11	6	5	4	5	9	5	13	5	8
Tremor	Yes	No	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes
Rigidity	No	Yes	Yes	Yes	No	No	No	Yes	No	No	Yes	No	Yes	Yes	No
Bradykinesia	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No	No
Postural instability	No	No	Yes	No	No	No	No	Yes	No	No	No	Yes	Yes	No	No
RBD	No	No	Yes	No	No	Yes	Yes	No	No	No	No	No	No	Yes	No
Sleep disturbances	No	Yes	Yes	No	No	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No
Constipation	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	No
Anxiety	No	Yes	Yes	No	Yes	Yes	No	No	No	Yes	Yes	No	Yes	Yes	No
Depression	No	Yes	Yes	No	Yes	Yes	no	Pr	No	No	Yes	No	Yes	Yes	No
Hallucinations	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
Psychiatric symptoms	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
Impulsion/compulsion	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
Cognitive deficits	No	No	No	No	No	Pr	No	Pr	No	Pr	No	Pr	No	No	No
Dementia	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
Hypertension	Yes	No	No	No	No	No	No	Yes	No	No	No	No	Yes	No	No
Hypotension	Yes	No	No	Yes	No	No	No	Yes	Yes	No	No	No	No	No	No
Diabetes	No	Yes	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No

H & Y, Hoehn & Yahr disease stage; LEDD, Levodopa equivalent daily dose; RBD, Rapid-eye movement sleep behavior disorder; No, symptom not present; Yes, symptom present; Pr, probable.

MRI data acquisition:

MRI data were acquired on a 3.0 Tesla Prisma Fit MRI scanner (Siemens Magnetom) using a 32 channels head coil, at the Functional Neuroimaging Unit (UNF) of the IUGM research center. A T1-Weighted 3D magnetization prepared rapid acquisition gradient echo (MPRAGE) sequence (echo time (TE): 2.17ms, repetition time (TR) : 2400.0 ms, flip angle: 8°, voxel size: 1.0 * 1.0 * 1.0 mm, 176 contiguous sagittal slices, Field of view (FOV): 224 mm) was acquired for anatomical reference. Resting-state and task-related functional scans were also

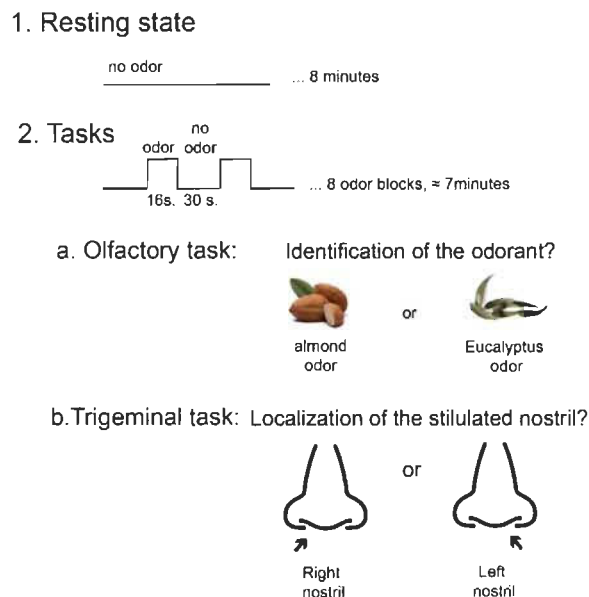
acquired with a whole brain echo-planar imaging (EPI) sequence sensitive to blood oxygen level-dependent (BOLD) contrast (acceleration factor slice: 3, TR: 832 ms, TE: 20.0 ms, flip angle: 58, Voxel size: 3.0×3.0×3.0, FOV:192, 51 slices, no gap). Resting-state data were collected before task related scans as resting-state networks might be influenced by odors [56]. For the resting state, one single measurement of 570 scans was acquired while the participants were instructed to lie still for 8 minutes with their eyes open and to fixate their gaze at a white cross projected on a black screen. For the activation task, 2 sequences of approximately 7 minutes, each including a single measurement of 565 scans, were acquired. Headphones were used to attenuate scanner noise. Patients with PD were on normal dopaminergic medication state during MRI scanning to control for involuntary head motions.

FMRI activation task

Stimulus were delivered during the functional scan using a MR compatible and computer-controlled air-dilution olfactometer [57]. Mixed olfactory-trigeminal stimuli embedded in a constant air flow (0.5 L/min) were presented intranasally to the participant through a cannula, that had been modified so that odors were presented independently to the right or left nostril. Two mixed olfactory-trigeminal stimuli were used, eucalyptus odor (eucalyptol 99% (470-82-6): Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, USA) and almond odor (benzaldehyde 99% (100-52-7), Sigma-Aldrich). Participant were familiarized with the odorants and the task prior to the scanning session.

Participants performed two tasks in the scanner - an olfactory identification task and a trigeminal localization task; tasks were performed in a pseudorandomized order. The same odorants and the same stimulation paradigm were used for both tasks. Odors were presented in 8 stimulation blocks of 16 seconds separated by blocks of odorless air of 30 seconds to avoid habituation. For the olfactory identification task, participants identified the presented odor by button pressing. For the trigeminal localization task, participants identified the stimulated nostril (right or left nostril), no matter the presented odor using similar button presses. This trigeminal localization task is specific to the trigeminal system and based on the fact that localization of an odorous stimulus presented to only one nostril is not possible if the stimulus activates the trigeminal system [58, 59] (Figure 7.1).

Figure 7-1. fMRI design.



*Participants were invited to first perform a resting-state of 8 minutes and then two tasks, in a pseudorandomized order, that rely on **a.** olfactory or **b.** trigeminal features of mixed olfactory-trigeminal stimuli (almond or eucalyptol odor).*

MRI data preprocessing:

Preprocessing was performed using Statistical Parametric Mapping (SPM12) (<https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm12/>) implemented in MATLAB (R2017b, MathWorks Inc., Natick, Massachusetts, USA). DICOM files were first converted to Nifti format. Standard preprocessing pipeline was applied to fMRI data including slice time correction, realignment, co registration to the participant's T1 structural images, spatial normalization to Montreal Neurological Institute (MNI) standard brain template and spatial smoothing with a 6mm full width half maximum (FWHM) isotropic Gaussian kernel filter.

Seed-based functional connectivity analysis

We aimed to specifically investigate the functional connectivity between trigeminal and olfactory central processing areas to assess potential differences between groups. According to this a-priori hypothesis, we chose a seed-based correlation approach that investigate the

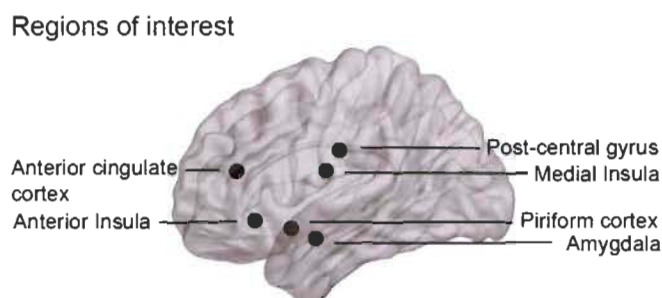
relationship between a specific region of interest in the brain with other region of interest. More specifically, this analysis indicates the functional coupling between the average BOLD time courses of a particular seed to the signal of other selected seeds [24].

We therefore selected specific regions of interest (ROI) contributing mainly to trigeminal and olfactory processing to assess potential alterations in functional connectivity between those regions. These regions were specifically selected from a meta-analysis employing a quantitative voxel-based activation likelihood estimation (ALE) approach on functional imaging data to identify human brain areas activated following chemosensory, i.e., olfactory, trigeminal, and mixed olfactory-trigeminal, stimulation [20]. The following regions of interest were selected: (1) piriform cortex, (2) medial insula, (3) amygdala, (4) postcentral gyrus and orbitofrontal cortex (OFC). The original publication presented regions in Talairach coordinates; we converted them to MNI coordinates in Matlab [60]. By doing so, we noticed that the region that had been labelled OFC was in fact located in the anterior part of the insula; we thus labelled it (5) anterior insula (Figure 7.2). In the original publication, postcentral gyrus, anterior insula, medial insula and piriform cortex had been characterized as activated following trigeminal stimulation, whereas amygdala and anterior cingulate cortex had been characterized as activated following olfactory stimulation [20]. See Table 7.3 for brain coordinates.

To define the ROI, we centered a spherical volume of interest around the activation maxima in each predefined coordinate, on both right and left hemispheres separately (radius = 6mm) [61]. We then created a binary mask for each seed and used it to extract time courses of the BOLD response for each ROI of both the resting-state and the task related scans for each subsequent analysis. To correct for head movements, 6 parameters motions were regressed out from the times series (x, y, z translations and rotations) [62]. Then a band pass Butterworth filter (cutoff frequency 0.01 – 0.1 Hz, order 4th) was applied to the times series. As head motion might affect functional connectivity [63], we compared framewise displacement metric between the 3 groups to exclude systematic differences in motion and we confirmed no group differences for both resting-state [One way ANOVA: $F(2, 42) = 0.76$; $p = .48$], olfactory task [One way ANOVA: $F(2, 42) = 0.77$; $p = .47$] and trigeminal task [One way ANOVA: $F(2, 42) = 0.41$; $p = .67$]. Then, static functional connectivity network was estimated over the duration of the entire scan session of the resting-state session and for each task session. Functional connectivity values

were obtained for each participant based on the Pearson's correlation matrices from the ROI. The correlated values were then Fisher r to z - transformed to improve normality. For group comparisons, 3 separates pairwise t-tests were applied, between controls and PD patients, controls and NPOD and between PD patients and NPOD patients. To ensure intra patient reproducibility, we assess the biases of each individual on connectivity results using Jackknife resampling method (Supplementary Fig. 7.5).

Figure 7-2. Schematic localization of the selected regions of interest.



The following brain regions implicated in the processing of olfactory and trigeminal information were selected for seed-based correlations analysis: anterior cingulate cortex, anterior insula, postcentral gyrus, medial insula, piriform cortex, and amygdala.

Table 7-3. Brain coordinates of the selected regions of interest

Anatomical label	Talarach brain coordinates (x, y, z)	
	Right hemisphere	Left hemisphere
Anterior cingulate cortex	-2, 36, 14	2, 36, 14
Anterior insula	-32, 24, -8	32, 24, -8
Post-central gyrus	-44, -14, 26	44, -14, 26
Medial insula	-32, -8, 16	32, -8, 16
Piriform cortex	-20, 8, -10	20, 8, -10
Amygdala	-20, -4, -14	20, -4, -14

Community detection and modularity of brain networks

To further assess how these regions of interest are connected and to identify brain networks, a community detection analysis was performed using the brain connectivity toolbox in Matlab (<http://www.brain-connectivity-toolbox.net>) [64]. To do so, the Louvain modularity optimization algorithm was applied on the data (resolution parameter: 0.95) [65,66]. This is a well-suited method for brain analysis questions that allows for detecting communities in networks by optimizing the modularity. A community, or a module, is a group of nodes (in this context: regions of interest) from the network, where nodes in the same community are strongly connected with each other but sparsely connected to nodes from different communities. The modularity globally evaluates the difference between the actual probability of the connection of two nodes in a same community and the estimated randomly connection probability between these two nodes [67]. The modularity index (Q , between -1 to 1) is a measure of the strength of the network division into sub-networks which are characterized by strong interconnections, with positive values indicating higher levels of connectivity and greater functional specialization of a network, negative values indicating reduced connectivity and a Q value of 0 reflecting a random network [68, 65]. The Louvain algorithm optimizes the modularity index for each community (or here grouping of regions of interest) until convergence to a modularity maximum. In other words, this is a hierarchical analysis that is repeated as many times as necessary so that the modularity index doesn't change anymore, which result in the identification of the best possible modular partitions and ensures the validity of the results. We compared the modularity distributions of our data with the modularity of a 1000 randomly generated networks derived from topological rewiring procedure [69], group comparison was performed using the non-parametric Monte Carlo resampling test.

Availability of data

Data will be made available upon request.

Results

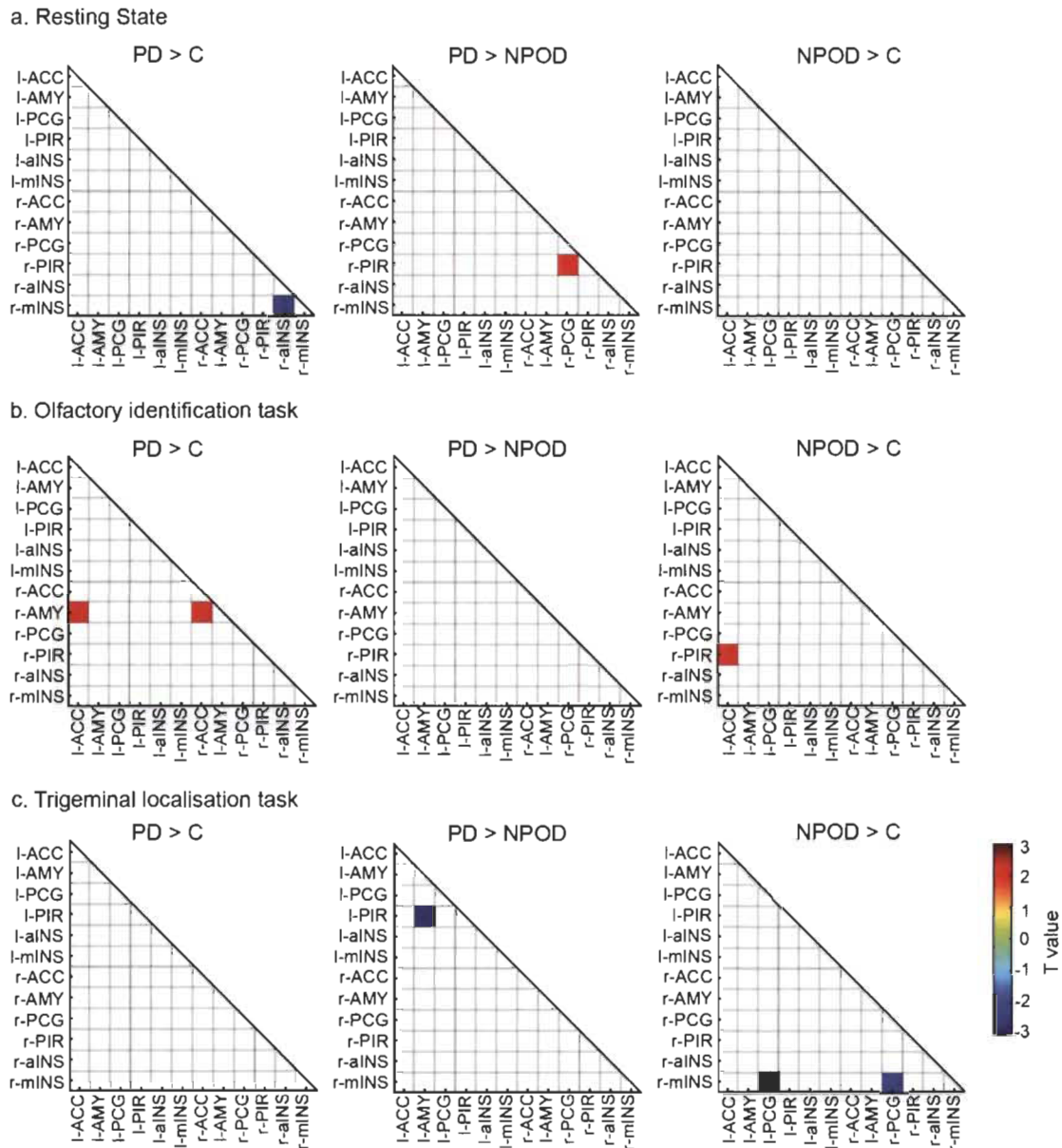
Seed-based functional connectivity

At resting-state, we observed reduced functional connectivity in PD patients compared to controls between the right anterior insula and the right medial insula ($t(27) = -2.44$, $p = .022$). No differences were found between NPOD patients and controls. PD patients further showed increased connectivity compared to NPOD between the right piriform and the right postcentral gyrus ($t(7) = -2.20$, $p = .036$).

When performing the olfactory identification task within the scanner, PD patients showed increased functional connectivity compared to controls between the right amygdala and the bilateral anterior cingulate gyrus (left: $t(28) = 2.23$, $p = .034$; right: $t(28) = 2.15$, $p = .040$). Similarly, NPOD patients also showed increased functional connectivity compared to controls, between the right piriform and the left anterior cingulate gyrus ($t(28) = 2.09$, $p = .045$). No differences were found between PD patients and patients with NPOD.

When performing the trigeminal localization task, no differences were found between PD patients and controls. In contrast, compared to controls, NPOD patients showed reduced connectivity between the right medial insula and the bilateral postcentral gyrus (left: $t(28) = -2.06$, $p = .049$; right $t(28) = -3.20$, $p = .003$). When we compared both patient groups, PD patients showed reduced connectivity between the left piriform and the left amygdala ($t(28) = -2.75$, $p = .010$) compared to NPOD (Figure 7.3).

Figure 7-3. Functional connectivity matrices



Differences in functional connectivity between groups at **a)** resting state, **b)** during the olfactory identification task and **c)** during the trigeminal localization task. Contrast between PD and controls, PD and NPOD and NPOD and Controls are presented for the left and right selected region of interest. Only significant results are shown. Colors represent t-values, red correspond to increase connectivity and blue correspond to reduced connectivity. ACC, anterior cingulate cortex; aINS, anterior insula; PCG, postcentral gyrus; mINS, medial insula; PIR, piriform cortex; AMY, amygdala.

Community detection and modularity of brain networks

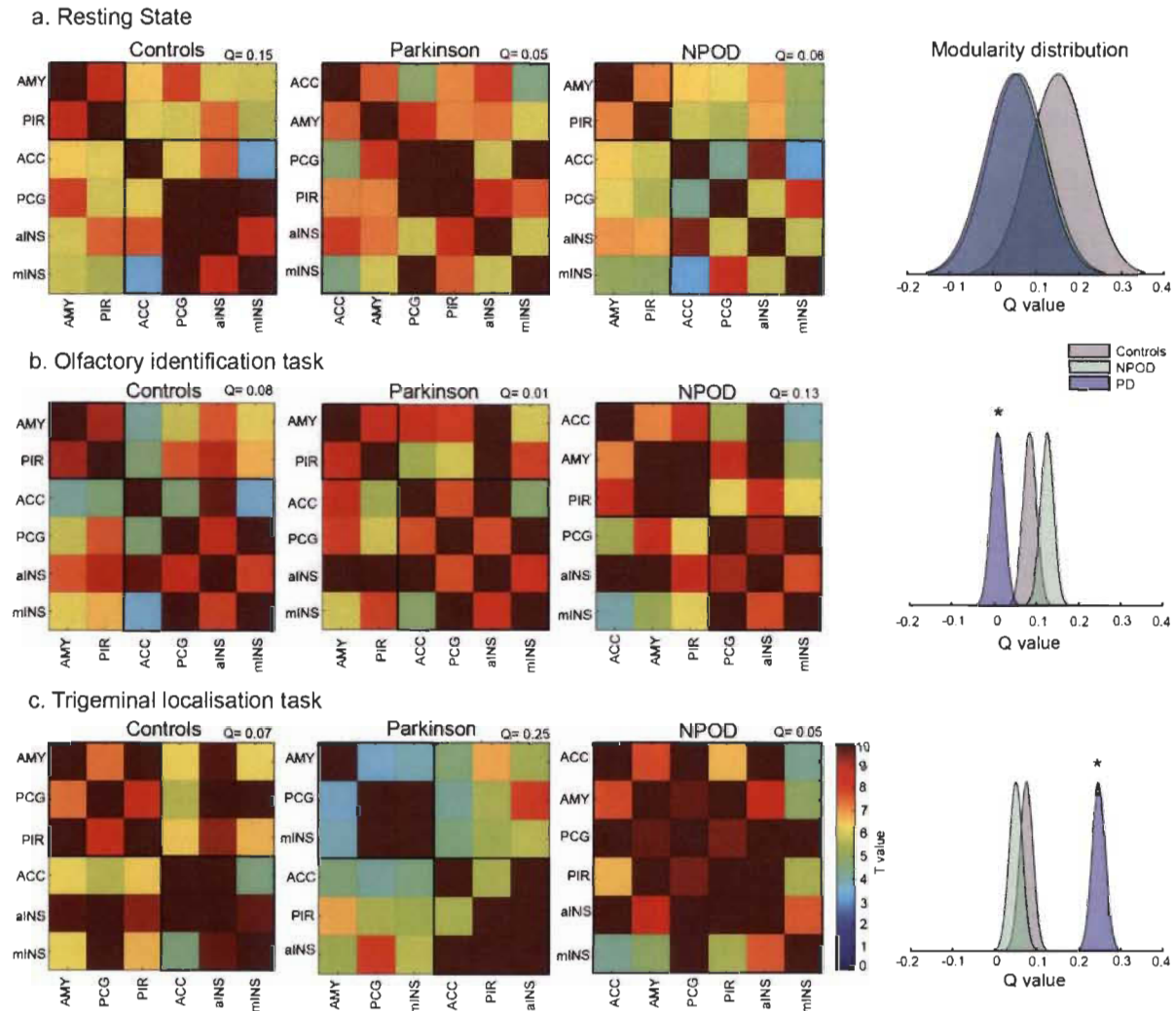
The community detection analysis revealed different modules amongst the ROIs with an optimal modularity during resting-state and task-related scans (Figure 7.4). Next, we compared network modularity between groups for each task.

During resting-state, we identified modules in both, the control participants and NPOD patients, namely Module 1, including amygdala and piriform cortex, and Module 2, including the anterior cingulate gyrus, medial and anterior insula as well as the postcentral gyrus. We did not observe any modules in PD patients. Nevertheless, modularity was not significantly different between groups ($z = 1.06$; $p = .2$).

While performing the olfactory identification task, we identified the same modules as at resting-state for controls. These same modules were also weakly coupled in PD patients. In NPOD patients, however, we identified a different network, with Module 1, including amygdala, piriform cortex, and anterior cingulate gyrus and Module 2, including postcentral gyrus, anterior insula and medial insula. The modularity was significantly *lower* in PD patients when compared to both controls ($z = 3.43$; $p < .001$) and NPOD ($z = 5.32$; $p < .001$), but not different between controls and NPOD.

While performing the trigeminal localization task, controls exhibited a different network as Module 1 regrouped amygdala, piriform cortex and postcentral gyrus while Module 2 comprised anterior cingulate gyrus, anterior insula and medial insula. In contrast, PD patients' network consisted of Module 1 including amygdala, postcentral gyrus and medial insula and Module 2 including anterior cingulate gyrus, piriform cortex and anterior insula. No modular network was identified for patients with NPOD. The modularity distribution of the networks was significantly *higher* in PD patients when compared both to controls ($z = 7.59$; $p < 0.001$) and NPOD patients ($z = 8.68$; $p < 0.001$), but not different between controls and NPOD (Figure 7.4).

Figure 7-4. Community detection of brain networks and modularity distribution.



Detection of community amongst the selected regions of interest for the left and right brain side, for each group at **a)** resting state and while performing **b)** an olfactory task and **c)** a trigeminal task. Black squares regroup the identified networks. Colors represent T-values.

Modularity (Q) distribution of the identified networks for the 3 groups is presented for each condition. ACC, anterior cingulate cortex; aINS, anterior insula; PCG, postcentral gyrus; mINS, medial insula; PIR, piriform cortex; AMY, amygdala

Discussion

In this study, we compared functional connectivity of the chemosensory network between PD patients, patients with NPOD, and controls. We found impaired functional connectivity in PD patients at resting-state while no such changes were observed for NPOD patients, when compared to healthy controls. However, when assessing the chemosensory network organization, we found no group difference in modularity of the networks. When participants carried out a chemosensory task, a different picture emerged. Both patient groups exhibited impaired connectivity when they executed an olfactory task. Furthermore, the network modularity was significantly lower for PD patients than in controls and NPOD patients. However, when performing a trigeminal task, no changes were found for PD patients, but NPOD patients exhibited impaired connectivity. In contrast, PD patients' network exhibited a significantly higher modularity than both other groups.

With regards to the resting-state results, PD patients exhibited reduced connectivity between the anterior and medial part of the insula. This is in line with the notion of PD affecting functional connectivity in several regions and networks, including the default mode network, limbic, motor and sensorimotor networks, with a large heterogeneity [25, 28]. For instance, PD leads to both reduced, e.g., in mesostriatal and corticostriatal networks, and increased, e.g., in fronto-parietal regions and cerebellum, functional connectivity [70]. Further, the olfactory deficit in PD is associated with a changed pattern of functional connectivity between primary sensory area and the posterior cingulate cortex [37], a reduced connectivity between the orbitofrontal cortex and the insula [40], a reduced connectivity of the amygdala [39], and the limbic/paralimbic cortex [38]. We found similar connectivity changes in the insula, which is a known center of chemosensory and multisensory integration as well as pain processing [71]. Specifically, the anterior insula receives projections from the piriform cortex and is consistently activated by olfactory stimulation [72], whereas the medial insula receives somatosensory, pain, temperature and trigeminal related information [73]. Our result therefore suggest that PD impairs connectivity between olfactory (anterior insula) and trigeminal (medial insula) processing areas, in line with the notion of an altered interaction between these two systems. In contrast to the finding in PD, there are no connectivity changes in NPOD at rest, when compared

to healthy controls. This is in line with the literature on patients with anosmia [74] and result of the fact that NPOD is not a disease of the brain.

In contrast to the resting-state data, both groups of patients showed increased connectivity compared to controls while they were carrying out an olfactory task. Increased connectivity may be found when a system is recruited for a specific task, especially if participants struggle to perform the task [75]. Therefore, this result is in concordance with impaired olfactory performance in both groups of patients. Similar networks were identified in PD patients and controls, but the modularity distribution was significantly weaker in PD patients than in controls and NPOD patients. The alteration in network modularity is in line with previous reports showing that PD alters modular organization of different brain networks [31, 47]. In PD patients, connectivity between the right amygdala and the bilateral anterior cingulate gyrus is changed; both areas are impaired in PD [76,77] and associated to PD-related OD [38,78,79].

The picture was different for NPOD patients, in whom connectivity between the right piriform and the left anterior cingulate gyrus was altered. However, in contrast to PD patients, when looking at the network organization, we found no group differences in modularity despite different identified networks. In fact, previous studies showed that olfactory stimulation in NPOD typically leads to reduced activation in olfactory brain processing areas, and the severity of the olfactory deficit is related to the extent of the chemosensory network recruitment [74]. Further, the piriform cortex was found to be more activated in response to olfactory stimulation in NPOD patients in contrast to pure sniffing [74,80], which is a task capable of activating the olfactory network even in anosmia [81]. In line with this, NPOD patients show reduced connectivity in response to sniffing of odorless air in a broad variety of brain areas including chemosensory areas such as the entorhinal cortex, piriform cortex, and primary somatosensory cortex [74]. In summary, both patients' groups show impaired connectivity while performing an olfactory task, but different regions are involved, and distinct mechanism seems to be implicated as PD-related OD specifically affect modularity.

When performing a trigeminal task, connectivity was reduced in NPOD patients but not in PD patients. Similar to the results in the olfactory task, this reflects behavioral findings as trigeminal sensitivity is not impaired in PD patients, but typically reduced in NPOD patients [6]. Interestingly, our data demonstrate a specific chemosensory network organization with

significantly higher modularity in PD while they perform the task. In the PD network, the two modules consisted of (1) amygdala, postcentral gyrus and medial insula, and (2) anterior cingulate gyrus, piriform cortex and anterior insula. This suggests that although showing low modularity at rest and during the olfactory task, PD patients recruit the chemosensory network in a distinct fashion while executing a trigeminal task. Densely intra-connected regions, as reflected by a higher modularity, in the nervous system is an indication of effective segregate processing for specialized function [82]. This result is concordant with our previously published results suggesting that PD patients process central trigeminal information differently, when compared to controls and patients with NPOD [7]. More precisely, network organization showed that the piriform cortex and the amygdala were grouped together in the same module in all conditions and groups, with the only exception being PD patients while performing the trigeminal task. Rather, in PD patients the piriform cortex is replaced, in the module, by the medial insula. We hypothesize that reduced functional connectivity between piriform cortex and insula, or between piriform cortex and amygdala, or both, might explain this network reorganization. In fact, alterations of the insula were found to be implicated in several non-motor symptoms of PD, by its interaction with several brain networks, and are particularly contributing to somatosensory alterations in PD [83]. Thus, reduced connectivity of this region might explain different trigeminal processing in PD patients. Interestingly, when focusing on specific differences observed between PD and NPOD patients, reduced connectivity between the piriform cortex and the amygdala is observed while performing the trigeminal task. Both regions are known to be implicated in PD pathology and PD-related OD [84,85]. Therefore, investigating the link between these two brain processing areas might be the key towards the development of discriminating tool between both forms of olfactory dysfunction. Other changes between both groups of patients include reduced connectivity of the right piriform cortex and postcentral gyrus at resting state. Again, the piriform cortex seems to be specifically implicated in PD-related OD. Atrophy and altered brain metabolism of the piriform cortex was indeed previously associated to OD in PD [84,86]. Futures studies should focus on the piriform cortex in both forms of OD, using seed-based functional connectivity to characterize its connections with the rest of the brain.

As for patients with NPOD, no modularity changes were observed but they showed reduced connectivity between the medial insula and the postcentral gyrus while performing the

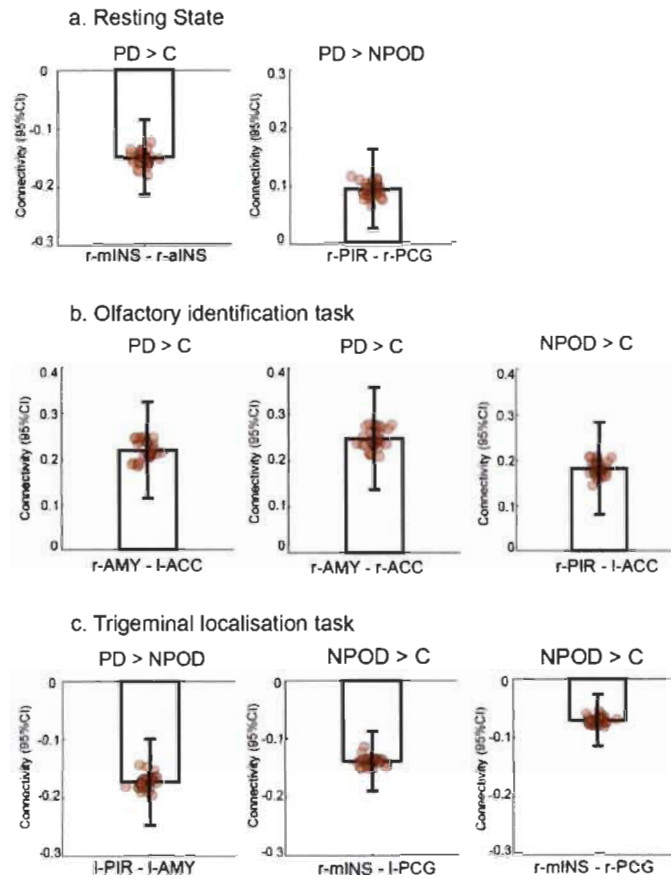
trigeminal task. Both regions are important for processing of trigeminal information and this result is in line with the notion of impaired trigeminal sensitivity in NPOD. Trigeminal stimulation in these patients is associated with reduced activation in somatosensory brain processing areas (e.g., S1, S2, insula), but increased activity in regions such as parahippocampal, cingulate gyrus; which was suggested to be the consequence of potential compensatory mechanism [13,87,88]. In line with our results, NPOD patients have unchanged network recruitment but reduced connectivity of these network [89].

In summary, while performing a trigeminal task, functional connectivity changes are observed only in NPOD patients and not in PD patients, as opposed to control. However, modular organization of the chemosensory network is specifically altered in PD patients as opposed to controls and NPOD. As modularity was affected during both tasks, reduced during olfactory and increased during trigeminal tasks in PD patients, future studies should further focus on modular organization of the chemosensory network as a potential biomarker of olfactory-trigeminal alterations in PD.

We acknowledge that the sample size used in this study is relatively small, the results should therefore be interpreted carefully. Moreover, only a limited number of nodes were selected for connectivity analysis while more nodes are typically selected in network neuroscience; therefore, the results should only be interpreted within the network of interest and not be interpreted as a general effect. However, these regions of interest were specifically selected to assess the olfactory and trigeminal systems and to precisely answer our hypothesis. Nevertheless, this study is well controlled, the inclusion of both a healthy control group and a control group of patients with NPOD is crucial towards a better understanding of PD-related OD. A rigorous screening procedure was performed to include only patients with post-viral and sinonasal OD that are difficult to recruit. A larger study including both healthy controls and controls with NPOD should be carried out to better define a specific pattern of functional connectivity in PD and network modularity.

In conclusion, we here report preliminary findings showing a potentially specific pattern of functional connectivity and chemosensory network recruitment in PD related OD, when compared to patients with NPOD and healthy controls, that has to be further investigated.

Figure 7-5. Supplementary figure



Biases of each individual for each significant functional connectivity result reported (refer to Figure 7.3), for each group contrast at rest and task, using Jackknife resampling method. Each orange dot marks the contribution of individuals to the overall group result

Acknowledgements

This work was supported by grants from the Quebec Bio-imaging Network, by the Fonds de la recherche du Québec – Santé and by the Université du Québec in Trois-Rivières. We would like to thank the Quebec Parkinson Network for the help with the recruitment of PD patients, the IUGM staff, Lison Guibert-Bérenghier for the help with the testing and all the participants implicated in this study.

Conflict of interest

The authors have no conflict of interest to report.

References

- [1] Ponsen MM, Stoffers D, Twisk JW, Wolters E, Berendse HW (2009) Hyposmia and executive dysfunction as predictors of future Parkinson's disease: a prospective study. *Mov Disord* 24, 1060-1065.
- [2] Haehner A, Boesveldt S, Berendse HW, Mackay-Sim A, Fleischmann J, Silburn PA, Johnston AN, Mellick GD, Herting B, Reichmann H, Hummel T (2009) Prevalence of smell loss in Parkinson's disease--a multicenter study. *Parkinsonism Relat Disord* 15, 490-494.
- [3] Doty RL (2012) Olfactory dysfunction in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol* 8, 329-339.
- [4] Darweesh SK, Verlinden VJ, Stricker BH, Hofman A, Koudstaal PJ, Ikram MA (2017) Trajectories of prediagnostic functioning in Parkinson's disease. *Brain* 140, 429-441.
- [5] Hummel T, Whitcroft K, Andrews P, Altundag A, Cinghi C, Costanzo R, Damm M, Frasnelli J, Gudziol H, Gupta N (2017) Position Paper on Olfactory Dysfunction. *Rhinology* 54.
- [6] Tremblay C, Durand Martel P, Frasnelli J (2017) Trigeminal system in Parkinson's disease: A potential avenue to detect Parkinson-specific olfactory dysfunction. *Parkinsonism Relat Disord* 44, 85-90.
- [7] Tremblay C, Emrich R, Cavazzana A, Klingelhoefer L, Brandt MD, Hummel T, Haehner A, Frasnelli J (2019) Specific intranasal and central trigeminal electrophysiological responses in Parkinson's disease. *J Neurol* 266, 2942-2951.
- [8] Hummel T, Frasnelli J (2019) The intranasal trigeminal system. *Handb Clin Neurol* 164, 119-134.
- [9] Laska M, Distel H, Hudson R (1997) Trigeminal perception of odorant quality in congenitally anosmic subjects. *Chem Senses* 22, 447-456.
- [10] Cain WS, Murphy CL (1980) Interaction between chemoreceptive modalities of odour and irritation. *Nature* 284, 255-257.
- [11] Doty RL (1975) Intranasal trigeminal detection of chemical vapors by humans. *Physiol Behav* 14, 855-859.
- [12] Frasnelli J, Schuster B, Hummel T (2010) Olfactory dysfunction affects thresholds to trigeminal chemosensory sensations. *Neurosci Lett* 468, 259-263.
- [13] Iannilli E, Gerber J, Frasnelli J, Hummel T (2007) Intranasal trigeminal function in subjects with and without an intact sense of smell. *Brain Res* 1139, 235-244.

- [14] Frasnelli J, Schuster B, Zahnert T, Hummel T (2006) Chemosensory specific reduction of trigeminal sensitivity in subjects with olfactory dysfunction. *Neuroscience* 142, 541-546.
- [15] Hummel T, Futschik T, Frasnelli J, Huttenbrink KB (2003) Effects of olfactory function, age, and gender on trigeminally mediated sensations: a study based on the lateralization of chemosensory stimuli. *Toxicol Lett* 140-141, 273-280.
- [16] Tremblay C, Durand Martel P, Frasnelli J (2018) Chemosensory perception is specifically impaired in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 57, 68-71.
- [17] Brand G (2006) Olfactory/trigeminal interactions in nasal chemoreception. *Neurosci biobehav Rev* 30, 908-917.
- [18] Pellegrino R, Drechsler E, Hummel C, Warr J, Hummel T (2017) Bimodal odor processing with a trigeminal component at sub- and suprathreshold levels. *Neuroscience* 363, 43-49.
- [19] Tremblay C, Frasnelli J (2018) Olfactory and Trigeminal Systems Interact in the Periphery. *Chem Senses* 43, 611-616.
- [20] Albrecht J, Kopietz R, Frasnelli J, Wiesmann M, Hummel T, Lundstrom JN (2010) The neuronal correlates of intranasal trigeminal function-an ALE meta-analysis of human functional brain imaging data. *Brain Res Rev* 62, 183-196.
- [21] Boyle JA, Heinke M, Gerber J, Frasnelli J, Hummel T (2007) Cerebral activation to intranasal chemosensory trigeminal stimulation. *Chem Senses* 32, 343-353.
- [22] Hummel T, Iannilli E, Frasnelli J, Boyle J, Gerber J (2009) Central processing of trigeminal activation in humans. *Ann N Y Acad Sci* 1170, 190-195.
- [23] Rogers BP, Morgan VL, Newton AT, Gore JC (2007) Assessing functional connectivity in the human brain by fMRI. *Mag Reson Imaging* 25, 1347-1357.
- [24] Tahmasian M, Eickhoff SB, Giehl K, Schwartz F, Herz DM, Drzezga A, van Eimeren T, Laird AR, Fox PT, Khazaie H, Zarei M, Eggers C, Eickhoff CR (2017) Resting-state functional reorganization in Parkinson's disease: An activation likelihood estimation meta-analysis. *Cortex* 92, 119-138.
- [25] Cerasa A, Novellino F, Quattrone A (2016) Connectivity Changes in Parkinson's Disease. *Curr Neurol Neurosci Rep* 16, 91-91.
- [26] Hacker CD, Perlmuter JS, Criswell SR, Ances BM, Snyder AZ (2012) Resting state functional connectivity of the striatum in Parkinson's disease. *Brain* 135, 3699-3711.
- [27] Luo C, Song W, Chen Q, Zheng Z, Chen K, Cao B, Yang J, Li J, Huang X, Gong Q, Shang H-F (2014) Reduced functional connectivity in early-stage drug-naive Parkinson's disease: a resting-state fMRI study. *Neurobiol Aging* 35, 431-441.

- [28] de Schipper LJ, Hafkemeijer A, van der Grond J, Marinus J, Henselmans JML, van Hilten JJ (2018) Altered Whole-Brain and Network-Based Functional Connectivity in Parkinson's Disease. *Front Neurol* 9, 419.
- [29] Hohenfeld C, Werner CJ, Reetz K (2018) Resting-state connectivity in neurodegenerative disorders: Is there potential for an imaging biomarker? *Neuroimage Clin* 18, 849-870.
- [30] Shen B, Pan Y, Jiang X, Wu Z, Zhu J, Dong J, Zhang W, Xu P, Dai Y, Gao Y, Xiao C, Zhang L (2020) Altered putamen and cerebellum connectivity among different subtypes of Parkinson's disease. *CNS Neurosci Ther* 26, 207-214.
- [31] Baggio H-C, Sala-Llloch R, Segura B, Marti M-J, Valldeoriola F, Compta Y, Tolosa E, Junqué C (2014) Functional brain networks and cognitive deficits in Parkinson's disease. *Hum Brain Mapp* 35, 4620-4634.
- [32] Weil RS, Hsu JK, Darby RR, Soussand L, Fox MD (2019) Neuroimaging in Parkinson's disease dementia: connecting the dots. *Brain commun* 1, fcz006-fcz006.
- [33] Lin H, Cai X, Zhang D, Liu J, Na P, Li W (2020) Functional connectivity markers of depression in advanced Parkinson's disease. *Neuroimage Clin* 25, 102130.
- [34] Gao J, Guan X, Cen Z, Chen Y, Ding X, Lou Y, Wu S, Wang B, Ouyang Z, Xuan M, Gu Q, Xu X, Huang P, Zhang M, Luo W (2019) Alteration of Brain Functional Connectivity in Parkinson's Disease Patients with Dysphagia. *Dysphagia* 34, 600-607.
- [35] Campabadal A, Abos A, Segura B, Serradell M, Uribe C, Baggio HC, Gaig C, Santamaria J, Compta Y, Bargallo N, Junque C, Iranzo A (2019) Disruption of posterior brain functional connectivity and its relation to cognitive impairment in idiopathic REM sleep behavior disorder. *Neuroimage Clin* 25, 102138-102138.
- [36] Miloserdov K, Schmidt-Samoa C, Williams K, Weinrich CA, Kagan I, Bürk K, Trenkwalder C, Bähr M, Wilke M (2019) Aberrant functional connectivity of resting state networks related to misperceptions and intra-individual variability in Parkinson's disease. *Neuroimage Clin* 25, 102076-102076.
- [37] Sunwoo MK, Cha J, Ham JH, Song SK, Hong JY, Lee JM, Sohn YH, Lee PH (2015) Olfactory performance and resting state functional connectivity in non-demented drug naive patients with Parkinson's disease. *Hum Brain Mapp* 36, 1716-1727.
- [38] Su M, Wang S, Fang W, Zhu Y, Li R, Sheng K, Zou D, Han Y, Wang X, Cheng O (2015) Alterations in the limbic/paralimbic cortices of Parkinson's disease patients with hyposmia under resting-state functional MRI by regional homogeneity and functional connectivity analysis. *Parkinsonism Relat Disord* 21, 698-703.
- [39] Yoneyama N, Watanabe H, Kawabata K, Bagarinao E, Hara K, Tsuboi T, Tanaka Y, Ohdake R, Imai K, Masuda M, Hattori T, Ito M, Atsuta N, Nakamura T, Hirayama M, Maesawa

- S, Katsuno M, Sobue G (2018) Severe hyposmia and aberrant functional connectivity in cognitively normal Parkinson's disease. *PLoS One* 13, e0190072.
- [40] Lee YH, Bak Y, Park C-H, Chung SJ, Yoo HS, Baik K, Jung JH, Sohn YH, Shin N-Y, Lee PH (2019) Patterns of olfactory functional networks in Parkinson's disease dementia and Alzheimer's dementia. *Neurobiol Aging* 89, 63-70.
- [41] Pievani M, Filippini N, van den Heuvel MP, Cappa SF, Frisoni GB (2014) Brain connectivity in neurodegenerative diseases—from phenotype to proteinopathy. *Nat Rev Neurol* 10, 620-633.
- [42] Kavitha A, Prakash SS, P S, Carshia S A (2019) Investigations on the Functional connectivity disruptive patterns of progressive neurodegenerative disorders. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2019, 800-803.
- [43] Campbell MC, Jackson JJ, Koller JM, Snyder AZ, Kotzbauer PT, Perlmutter JS (2019) Proteinopathy and longitudinal changes in functional connectivity networks in Parkinson disease. *Neurology* 94, e718-e728.
- [44] Damoiseaux JS, Prater KE, Miller BL, Greicius MD (2012) Functional connectivity tracks clinical deterioration in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 33, 828.e819-828.e830.
- [45] Temmel AF, Quint C, Schickinger-Fischer B, Klimek L, Stoller E, Hummel T (2002) Characteristics of olfactory disorders in relation to major causes of olfactory loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 128, 635-641.
- [46] Newman ME (2004) Fast algorithm for detecting community structure in networks. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 69, 066133.
- [47] Ma Q, Huang B, Wang J, Seger C, Yang W, Li C, Wang J, Feng J, Weng L, Jiang W, Huang R (2017) Altered modular organization of intrinsic brain functional networks in patients with Parkinson's disease. *Brain Imaging Behav* 11, 430-443.
- [48] Litvan I, Bhatia KP, Burn DJ, Goetz CG, Lang AE, McKeith I, Quinn N, Sethi KD, Shults C, Wenning GK (2003) Movement Disorders Society Scientific Issues Committee report: SIC Task Force appraisal of clinical diagnostic criteria for Parkinsonian disorders. *Mov Disord* 18, 467-486.
- [49] Haehner A, Masala C, Walter S, Reichmann H, Hummel T (2019) Incidence of Parkinson's disease in a large patient cohort with idiopathic smell and taste loss. *J Neurol* 266, 339-345.
- [50] Lötsch J, Ultsch A, Eckhardt M, Huart C, Rombaux P, Hummel T (2016) Brain lesion-pattern analysis in patients with olfactory dysfunctions following head trauma. *Neuroimage Clin* 11, 99-105.
- [51] Frasnelli J, Fark T, Lehmann J, Gerber J, Hummel T (2013) Brain structure is changed in congenital anosmia. *Neuroimage* 83, 1074-1080.

- [52] Hummel T, Sekinger B, Wolf SR, Pauli E, Kobal G (1997) 'Sniffin' sticks': olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chem Senses* 22, 39-52.
- [53] Hummel T, Kobal G, Gudziol H, Mackay-Sim A (2007) Normative data for the "Sniffin' Sticks" including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an upgrade based on a group of more than 3,000 subjects. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 264, 237-243.
- [54] Nasreddine ZS, Phillips NA, Bedirian V, Charbonneau S, Whitehead V, Collin I, Cummings JL, Chertkow H (2005) The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. *J Am Geriatr Soc* 53, 695-699.
- [55] Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J (1961) An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry* 4, 561-571.
- [56] Cecchetto C, Fischmeister FPS, Reichert JL, Bagga D, Schöpf V (2019) When to collect resting-state data: The influence of odor on post-task resting-state connectivity. *Neuroimage* 191, 361-366.
- [57] Tabert MH, Steffener J, Albers MW, Kern DW, Michael M, Tang H, Brown TR, Devanand DP (2007) Validation and optimization of statistical approaches for modeling odorant-induced fMRI signal changes in olfactory-related brain areas. *Neuroimage* 34, 1375-1390.
- [58] Croy I, Schulz M, Blumrich A, Hummel C, Gerber J, Hummel T (2014) Human olfactory lateralization requires trigeminal activation. *Neuroimage* 98, 289-295.
- [59] Frasnelli J, La Buissonniere Ariza V, Collignon O, Lepore F (2010) Localisation of unilateral nasal stimuli across sensory systems. *Neurosci Lett* 478, 102-106.
- [60] Brett M, Christoff K, Cusack R, Lancaster J (2001) Using the Talairach atlas with the MNI template. *Neuroimage* 13, 85-85.
- [61] Poldrack RA (2007) Region of interest analysis for fMRI. *Soc Cogn Affect Neurosci* 2, 67-70.
- [62] Power JD, Schlaggar BL, Petersen SE (2015) Recent progress and outstanding issues in motion correction in resting state fMRI. *Neuroimage* 105, 536-551.
- [63] Power JD, Barnes KA, Snyder AZ, Schlaggar BL, Petersen SE (2012) Spurious but systematic correlations in functional connectivity MRI networks arise from subject motion. *Neuroimage* 59, 2142-2154.
- [64] Rubinov M, Sporns O (2010) Complex network measures of brain connectivity: Uses and interpretations. *Neuroimage* 52, 1059-1069.
- [65] Blondel VD, Guillaume J-L, Lambiotte R, Lefebvre E (2008) Fast unfolding of communities in large networks. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 2008, P10008.

- [66] Jutla IS, Jeub LG, Mucha PJ (2011) A generalized Louvain method for community detection implemented in MATLAB. URL <http://netwiki.amath.unc.edu/GenLouvain>.
- [67] Sporns O, Betzel RF (2016) Modular Brain Networks. *Annu Rev Psychol* 67, 613-640.
- [68] Newman MEJ (2006) Modularity and community structure in networks. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 8577-8582.
- [69] Sporns O (2011) The human connectome: a complex network. *Ann N Y Acad Sci* 1224, 109-125.
- [70] Kaut O, Mielacher C, Hurlemann R, Wüllner U (2020) Resting-state fMRI reveals increased functional connectivity in the cerebellum but decreased functional connectivity of the caudate nucleus in Parkinson's disease. *Neurol Res* 42, 62-67.
- [71] Nieuwenhuys R (2012) The insular cortex: a review. *Prog Brain Res* 195, 123-163.
- [72] Kurth F, Zilles K, Fox PT, Laird AR, Eickhoff SB (2010) A link between the systems: functional differentiation and integration within the human insula revealed by meta-analysis. *Brain Struct Funct* 214, 519-534.
- [73] Afif A, Minotti L, Kahane P, Hoffmann D (2010) Anatomofunctional organization of the insular cortex: a study using intracerebral electrical stimulation in epileptic patients. *Epilepsia* 51, 2305-2315.
- [74] Kollndorfer K, Jakab A, Mueller CA, Trattnig S, Schöpf V (2015) Effects of chronic peripheral olfactory loss on functional brain networks. *Neuroscience* 310, 589-599.
- [75] Hampson M, Peterson BS, Skudlarski P, Gatenby JC, Gore JC (2002) Detection of functional connectivity using temporal correlations in MR images. *Hum Brain Mapp* 15, 247-262.
- [76] Vogt BA (2019) Cingulate cortex in Parkinson's disease. *Handb Clin Neurol* 166, 253-266.
- [77] Braak H, Braak E, Yilmazer D, de Vos RAI, Jansen ENH, Bohl J, Jellinger K (1994) Amygdala pathology in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol* 88, 493-500.
- [78] Hummel T, Fliessbach K, Abele M, Okulla T, Reden J, Reichmann H, Wüllner U, Haehner A (2010) Olfactory fMRI in patients with Parkinson's disease. *Front Integr Neurosci* 4, 125.
- [79] Chen X, Hou X, Luo X, Zhou S, Liu X, Liu B, Chen J (2019) Altered Intra- and Inter-regional Functional Connectivity of the Anterior Cingulate Gyrus in Patients With Tremor-Dominant Parkinson's Disease Complicated With Sleep Disorder. *Front Aging Neurosci* 11, 319-319.
- [80] Reichert JL, Postma EM, Smeets PAM, Boek WM, de Graaf K, Schopf V, Boesveldt S (2018) Severity of olfactory deficits is reflected in functional brain networks-An fMRI study. *Hum Brain Mapp*.

- [81] Sobel N, Prabhakaran V, Desmond JE, Glover GH, Goode RL, Sullivan EV, Gabrieli JD (1998) Sniffing and smelling: separate subsystems in the human olfactory cortex. *Nature* 392, 282-286.
- [82] Sporns O, Zwi JD (2004) The small world of the cerebral cortex. *Neuroinformatics* 2, 145-162.
- [83] Christopher L, Koshimori Y, Lang AE, Criaud M, Strafella AP (2014) Uncovering the role of the insula in non-motor symptoms of Parkinson's disease. *Brain* 137, 2143-2154.
- [84] Baba T, Takeda A, Kikuchi A, Nishio Y, Hosokai Y, Hirayama K, Hasegawa T, Sugeno N, Suzuki K, Mori E, Takahashi S, Fukuda H, Itoyama Y (2011) Association of olfactory dysfunction and brain. *Metabolism in Parkinson's disease. Mov Disord* 26, 621-628.
- [85] Harding AJ, Stimson E, Henderson JM, Halliday GM (2002) Clinical correlates of selective pathology in the amygdala of patients with Parkinson's disease. *Brain* 125, 2431-2445.
- [86] Wu X, Yu C, Fan F, Zhang K, Zhu C, Wu T, Li K, Chan P (2011) Correlation between progressive changes in piriform cortex and olfactory performance in early Parkinson's disease. *Eur Neurol* 66, 98-105.
- [87] Iannilli E, Bitter T, Gudziol H, Burmeister HP, Mentzel HJ, Chopra APS, Hummel T (2011) Differences in anosmic and normosmic group in bimodal odorant perception: a functional- MRI study. *Rhinology* 49, 458-463.
- [88] Frasnelli, Schuster B, Hummel T (2007) Interactions between olfaction and the trigeminal system: what can be learned from olfactory loss. *Cereb Cortex* 17, 2268-2275.
- [89] Kollndorfer K, Fischmeister FPS, Kowalczyk K, Hoche E, Mueller CA, Trattinig S, Schöpf V (2015) Olfactory training induces changes in regional functional connectivity in patients with long-term smell loss. *Neuroimage Clin* 9, 401-410.

Chapitre 8. Discussion générale et conclusion

8.1. Contribution et résumé des résultats

Cette thèse doctorale apporte une meilleure compréhension de l'interaction entre les systèmes olfactif et trigéminal, notamment chez des patients présentant une altération chimiosensorielle soit les patients atteints de la MP et les patients atteints de TONP, mais aussi chez des participants avec un odorat dans la normale, via l'utilisation de mesures comportementales et des techniques de neuroimagerie, dont l'EEG et l'IRM.

Plus spécifiquement, les travaux de cette thèse ont permis d'identifier une atteinte chimiosensorielle spécifique associée à la MP en les comparant avec des patients atteints d'autres TONP. Les résultats ont d'abord (1) confirmé la présence d'une atteinte olfactive dans la MP lorsque comparés à des participants contrôles, de degré similaire à celle observée dans d'autres TONP.

Ensuite, nos résultats ont démontré (2) que la sensibilité et la perception trigéminal comportementale chez les patients avec la MP n'étaient pas différentes comparativement à des contrôles en contraste avec les patients atteints d'un TONP, chez qui la sensibilité trigéminal était significativement réduite. L'étude plus approfondie du système trigéminal a permis de démontrer que sa réponse périphérique et centrale est spécifiquement altérée dans la MP comparativement aux TONP et aux contrôles lorsque mesurée par EEG et par connectivité fonctionnelle.

Enfin, nos résultats ont permis (3) de préciser l'interaction entre le système olfactif et trigéminal chez des participants sains, en mettant en évidence l'amplification du système trigéminal par le système olfactif. Cette thèse contribue à mieux comprendre l'altération de cette interaction chez des patients avec la MP et des TONP en mettant en évidence les régions cérébrales et les potentiels mécanismes impliqués dans son altération. Cette thèse présente un modèle d'interaction spécifique à la MP en comparaison avec les TONP et les contrôles et propose différentes études pour valider ce modèle.

8.2. L'altération du système olfactif dans la MP

8.2.1. Altération olfactive sur le plan comportemental

Les résultats présentés dans cette thèse démontrent d'abord une réduction de l'odorat dans la MP, en comparaison à des participants contrôles, sur le plan comportemental par une réduction des tâches de seuil de détection, d'identification, de discrimination et de la perception des dimensions olfactives des odeurs. Il est bien décrit dans la littérature que les patients atteints de la MP présentent une réduction de l'odorat affectant ces tâches chez la majorité des patients, nos résultats sont donc concordants avec la littérature présente, ce qui permet aussi de valider la population étudiée (Doty, 2012a; Haehner *et al.*, 2011).

Dans toutes nos études, cette réduction de l'odorat dans la MP était similaire à l'atteinte olfactive des patients présentant des TONP. Très peu d'études ont comparé le trouble de l'odorat associé à la MP à d'autres TONP. Une étude réalisée dans notre laboratoire suggère toutefois que l'évaluation comportementale de l'odorat rétronasale pourrait aider à différencier ces deux groupes (Aubry-Lafontaine *et al.*, 2020). Dans le même ordre d'idée, une seule autre étude a comparé les patients avec la MP à d'autres TONP utilisant l'électroencéphalographie et suggère des différences dans les composantes tardives des potentiels évoqués centraux en réponse à une odeur pure, renforçant ainsi l'idée qu'il y a des différences potentiellement mesurables entre les deux étiologies de troubles de l'odorat (Iannilli *et al.*, 2017).

8.2.2. Altération du bulbe olfactif

Comme décrit en introduction, il n'est toujours pas clair quelle est la cause du trouble de l'odorat dans la MP, mais il pourrait être relié à diverses altérations du SNC, dont la présence de pathologie de Lewy dans le bulbe olfactif. Celui-ci constitue le premier relais de traitement de l'information olfactive et l'une des premières régions atteintes par la pathologie associée à la MP. Nos résultats de neuroimagerie démontrent effectivement une réduction du volume du bulbe olfactif dans la MP qui est corrélée à la réduction de la performance olfactive chez ces patients. Le volume du bulbe olfactif, une mesure de choix pour l'étude de l'olfaction, a été mesuré à quelques reprises chez les patients avec la MP, la plupart des publications incluant une méta-analyse ayant aussi démontré une réduction du volume du bulbe olfactif dans la MP (Li *et*

al., 2016). Il n'avait toutefois jamais été comparé au volume du bulbe olfactif de patients avec des TONP.

Cette réduction de volume du bulbe olfactif observée dans la MP est équivalente à la réduction observée dans d'autres TONP d'origine post-virale ou sinu-nasale, en dépit du fait que les mécanismes pathophysiologiques liés à la réduction du bulbe olfactif sont différents dans les deux étiologies de troubles de l'odorat. En effet, la réduction du volume du bulbe olfactif dans la MP pourrait être reliée à une altération directe du bulbe olfactif, entre autres, via une perte cellulaire dans le bulbe olfactif en lien avec la pathologie ou une altération de la modulation descendante du bulbe olfactif par diverses altérations du SNC (Huart *et al.*, 2019b). En contraste, la réduction du volume du bulbe olfactif dans les troubles de l'odorat post-viraux et sinu-nasaux serait plutôt reliée à une altération périphérique de la muqueuse nasale. Une obstruction nasale et/ou une réaction inflammatoire pourrait entraîner une atteinte de l'épithélium olfactif et une altération des récepteurs olfactifs pouvant mener à une diminution de la transmission de l'information vers le bulbe olfactif d'où le volume réduit (Rombaix *et al.*, 2016; Seiden, 2004). Ces résultats semblent donc concorder avec le concept que le volume du bulbe olfactif est un corrélat neuroanatomique de la fonction olfactive, modulé à la fois par l'information olfactive périphérique et la modulation descendante centrale, indépendamment de la condition sous-jacente qui pourrait affecter son volume (Mazal *et al.*, 2016).

8.2.2.1. Utilisation de techniques d'apprentissage profond sur les images IRM du bulbe olfactif

Bien que le volume du bulbe olfactif dans la MP soit similaire à celui d'autres TONP, lorsqu'un réseau neuronal d'apprentissage profond est appliqué sur ces mêmes images IRM centrées et restreintes au bulbe olfactif et son entourage, nous avons démontré qu'il est possible d'adéquatement classer des images IRM provenant soit d'un patient atteint de la MP ou d'un patient atteint de TONP avec une exactitude de 88.3%. La classification adéquate étant basée sur des caractéristiques impliquant le contour du bulbe olfactif et plus précisément l'espace au-dessus du bulbe olfactif s'étendant au sein du sulcus olfactif, une région aussi connue pour être corrélée avec la fonction olfactive. Ce modèle n'est pas idéal laissant passer beaucoup de mauvais diagnostics, il doit donc être perfectionné et validé dans des groupes de participants plus larges. Ces résultats démontrent toutefois que l'utilisation de techniques d'apprentissage

profond lorsque qu'appliquées sur des images de régions olfactives ont le potentiel d'aider au développement d'outils permettant la différenciation du trouble de l'odorat relié à la MP lorsque comparé à d'autres TONP.

8.2.3. Altération centrale de la connectivité fonctionnelle et la modularité lors de la réalisation d'une tâche olfactive

En lien avec les résultats comportementaux démontrant une altération de l'odorat dans la MP, nos résultats de neuroimagerie indiquent une altération de la connectivité fonctionnelle entre des centres chimiosensoriels lors de la réalisation d'une tâche impliquant la fonction olfactive. Nous avons observé une augmentation de la connectivité entre l'amygdale droite et gauche et le gyrus cingulaire antérieur droit pendant la réalisation d'une tâche d'identification olfactive. Une augmentation de la connectivité fonctionnelle peut être interprétée en termes d'un recrutement plus élevé de ces deux régions afin de tenter de réaliser la tâche. Cette augmentation de connectivité fonctionnelle pouvant sous-entendre que les participants ont de la difficulté à réaliser la tâche demandée, en lien direct avec la réduction de la performance olfactive observée chez ces patients (Hampson *et al.*, 2002). En concordance, le trouble de l'odorat dans la MP a été préalablement associé à diverses altérations de la connectivité fonctionnelle dans divers réseaux cérébraux (Cerasa *et al.*, 2016). L'amygdale et le cortex cingulaire antérieur sont des régions cérébrales connues pour être impliquées dans le trouble de l'odorat associé à la MP, l'altération de la connectivité fonctionnelle au repos ayant préalablement été rapportée dans ces régions (Chen *et al.*, 2019; Hummel *et al.*, 2010a; Su *et al.*, 2015).

De façon similaire, une augmentation de la connectivité fonctionnelle a aussi été observée chez les patients avec des TONP pendant la réalisation de la tâche olfactive, en lien avec l'atteinte olfactive chez ces patients. Ces résultats concordent avec la littérature, des altérations de la connectivité fonctionnelle ayant déjà été rapportées pendant la réalisation d'une tâche olfactive chez des patients avec un trouble de l'odorat post-viral (Kolindorfer *et al.*, 2015a; Kolindorfer *et al.*, 2015b). Dans notre étude, ces changements impliquaient le cortex piriforme droit et le cortex cingulaire antérieur gauche chez ce groupe de patients, des régions importantes pour le traitement de stimuli olfactifs qui ont préalablement été associées aux troubles de l'odorat (Kolindorfer *et al.*, 2015b; Reichert *et al.*, 2018).

Nous nous sommes ensuite intéressés à la modularité du réseau chimiosensoriel. Le principe de la modularité consiste à identifier des sous-réseaux fonctionnels au sein d'un réseau, qui sont appelés modules, les régions cérébrales d'un module étant plus fortement fonctionnellement connectées ensemble et moins fortement connectées aux régions d'autres modules (Sporns et Betzel, 2016). Bien que les modules identifiés dans la MP étaient les mêmes que ceux identifiés chez les contrôles, les patients avec la MP ont toutefois démontré une modularité significativement réduite comparativement aux contrôles lors de la réalisation d'une tâche olfactive. Une réduction de la modularité implique une connectivité réduite ainsi qu'une altération de l'intégrité au sein des modules, elle a été reliée à un traitement de l'information moins ségrégué et donc moins spécialisé (Sporns et Zwi, 2004). Ce résultat est en lien avec d'autres études ayant démontré une altération de l'intégrité et la ségrégation des réseaux exécutif, émotionnel et moteur via des altérations de l'organisation modulaire dans la MP (Ma *et al.*, 2017).

De façon intéressante, bien qu'aucune différence en connectivité fonctionnelle n'ait été observée entre les patients avec la MP et les TONP, les modules identifiés chez les patients atteints de la MP étaient différents de ceux identifiés chez les patients atteints de TONP. La modularité chez les patients avec la MP étant aussi significativement réduite comparativement aux patients avec des TONP, chez qui la modularité était similaire aux contrôles. L'étude de la modularité semble donc prometteuse pour mieux comprendre le trouble de l'odorat spécifiquement associé à la MP.

En somme, bien que l'atteinte olfactive soit de degré similaire entre la MP et les TONP lorsque mesurée sur le plan comportemental ou par la mesure du volume du bulbe olfactif, nos résultats concernant l'augmentation de la connectivité fonctionnelle lors de la réalisation d'une tâche olfactive et la réduction de la modularité des réseaux identifiés dans la MP suggèrent que les mécanismes sous-jacents impliqués sont différents entre les deux étiologies de troubles de l'odorat et impliquent des régions différentes du SNC.

8.3. La réponse trigéminal dans la MP

8.3.1. Réponse trigéminal sur le plan comportemental

En comparaison avec l'olfaction, le système trigéminal a été peu étudié dans la MP et aucune publication ne s'était spécifiquement concentrée sur son étude dans la MP. Nous présentons donc dans cette thèse la première série d'études évaluant spécifiquement la fonction trigéminal intranasale à divers niveaux de traitements dans la MP. Lorsqu'étudiée plan comportemental avec la tâche de latéralisation utilisant une odeur mixte, nous avons observé que la fonction trigéminal est équivalente chez des patients atteints de la MP comparativement à des contrôles ayant un odorat dans la normale. Lorsque la perception de sensation trigéminales de fraîcheur, de chaleur et de picotement, d'une variété d'odeurs présentées à une concentration hautement supérieure au seuil de perception, est évaluée, la perception de ces sensations chez les patients avec la MP est similaire à celle des participants contrôles. Ce qui est en contraste à la perception olfactive qui est significativement réduite dans la MP. Bien qu'il existe que très peu d'études évaluant la sensibilité trigéminal, nos résultats concordent avec les résultats d'une étude plus récente suggérant aussi une perception trigéminal intacte dans la MP comparativement à des contrôles, lorsque mesurée sur le plan comportemental (Crespo Cuevas *et al.*, 2018).

Plus intéressants encore, nos résultats démontrent que la sensibilité trigéminal est significativement plus élevée dans la MP lorsque spécifiquement comparée à des patients atteints de TONP, qui ont une sensibilité réduite comparativement à des contrôles. **Ces résultats démontrent une réponse trigéminal spécifique dans le trouble de l'odorat associé à la MP.** Il n'est pas clair si la perception des dimensions trigéminales est aussi plus élevée dans la MP que dans des TONP. Bien que notre première étude suggère que ce n'est pas le cas, la comparaison avec un groupe de patients atteints de TONP était manquante dans notre seconde étude. Des études futures doivent exposer ces deux groupes de participants à des stimuli avec un impact trigéminal élevé, à de fortes concentrations au-delà du seuil de perception, pour répondre plus clairement à cette question.

8.3.2. Réponse trigéminal sur le plan électrophysiologique

Pour mieux comprendre nos résultats concernant le test de la latéralisation et préciser la localisation et l'ampleur de la réponse trigéminal dans la MP, nous avons évalué l'activité électrophysiologique périphérique, de la muqueuse nasale, et centrale en réponse à un stimulus trigéminal pur.

8.3.2.1. Réponse trigéminal périphérique de la muqueuse nasale

Lorsque la réponse trigéminal périphérique est enregistrée, soit le potentiel mucosal négatif, aucune différence significative en latence ou en amplitude n'a été observée chez les patients atteints de la MP comparativement aux contrôles, en lien avec la notion d'un système trigéminal intact dans la MP.

Il est intéressant d'observer que lorsque cette réponse est comparée à des patients atteints de TONP, la latence est significativement plus élevée chez les patients avec des TONP que chez les patients avec la MP et les contrôles, démontrant ainsi une réponse spécifique dans la MP. Ce résultat est en lien avec une altération de la fonction trigéminal, dont des modifications électrophysiologiques de la réponse périphérique, qui est bien documentée dans les TONP (Frasnelli *et al.*, 2007b). Les patients avec un TONP présentant aussi une amplitude de la réponse périphérique plus élevée que les contrôles. Cependant, aucune différence n'est observée entre les patients avec la MP et des TONP lorsque l'amplitude est comparée. Les patients avec la MP présentent donc une amplitude de réponse qui n'est pas différente des contrôles, mais qui n'est pas différente des patients avec un TONP non plus. Bien qu'aucun rapport n'ait préalablement enregistré cette réponse périphérique chez des patients avec la MP, ces résultats semblent correspondre aux résultats comportementaux ne suggérant aucune altération de la sensibilité trigéminal.

8.3.2.2. Réponse trigéminal centrale

Lorsque des potentiels évoqués centraux sont enregistrés en réponse à un stimulus trigéminal pur, aucune différence significative n'est observée entre les patients atteints de la MP et les contrôles. Il est toutefois intéressant de noter que nous avons observé une tendance vers des amplitudes des composantes précoces plus élevées chez les patients avec la MP

comparativement aux contrôles. Ces résultats concordent avec une étude antérieure n'ayant pas rapporté de différences lors de l'enregistrement de potentiels évoqués centraux trigéminaux dans la MP en comparaison à des participants contrôles (Barz *et al.*, 1997). Néanmoins, cette tendance vers des amplitudes plus élevées dans la MP pourrait toutefois suggérer que non seulement le système trigéminal est intact, dans le sens où sa sensibilité n'est pas réduite comme c'est le cas dans d'autres troubles TONP, mais que les patients avec la MP présenteraient peut-être même une hypersensibilité aux stimulus trigéminaux. Ce concept est en lien avec le fait que les patients avec la MP présentent une hypersensibilité à la douleur, la perception de la douleur étant étroitement liée à la perception trigéminal, ceci pouvant expliquer une forme de compensation expliquant une réponse trigéminal intacte ou hypersensible (Iannilli *et al.*, 2008; Sung *et al.*, 2018). Une étude a effectivement démontré la présence d'un patron d'activité électroencéphalographique chaotique en réponse à des odeurs olfactives et trigéminales dans la MP comparativement à des contrôles, suggérant une altération particulière dans la MP (Guducu *et al.*, 2015).

Néanmoins, aucune différence significative entre les patients atteints de la MP et les contrôles n'a été enregistrée dans notre étude. Ainsi, des études futures sont nécessaires pour évaluer la spécificité de la réponse trigéminal par rapport aux contrôles et pour investiguer si les patients avec la MP présentent une hypersensibilité aux stimulus trigéminaux. Pour tester cette question de recherche, nous suggérons la mise en place d'études EEG enregistrant l'activité cérébrale en réponse à divers stimuli trigéminaux et utilisant un nombre plus élevé d'électrodes ainsi que des techniques d'analyse plus approfondies.

Encore plus intéressant, lorsque cette réponse est comparée à des patients atteints de TONP, l'amplitude des composantes précoces, soit l'amplitude de pic à pic N1P1, est significativement plus grande dans la MP lorsque comparée aux TONP, démontrant encore une altération spécifique dans la MP. Aucune autre différence en latence ou amplitude des composantes N1, P1, N2, P2 est observable entre les patients atteints de la MP, les TONP et les contrôles. Bien que nous ayons soulevé ces différences entre les groupes MP et TONP, nous n'avons toutefois pas reproduit le résultat d'études antérieures suggérant une réponse centrale réduite dans les TONP comparativement à des contrôles, des études futures avec un plus grand

nombre de participants et un plus grand nombre de stimulations trigéminales, afin d'obtenir un signal plus clair, sont encore nécessaires (Frasnelli *et al.*, 2007a).

8.3.3. Réponse centrale de la connectivité fonctionnelle et la modularité lors de la réalisation d'une tâche trigéminale

Lors de la réalisation d'une tâche de localisation trigéminale, la connectivité fonctionnelle entre les régions spécifiques du réseau chimiosensoriel sélectionnées demeure inchangée dans la MP en comparaison avec des contrôles. Ce résultat concorde avec nos résultats précédents suggérant une performance trigéminale intacte dans la MP. En contraste, une réduction de la connectivité fonctionnelle entre l'insula médiale droite et le gyrus post-central bilatéral a été observée dans les TONP, deux régions qui sont fortement associées au traitement de l'information trigéminale. Ce résultat semble donc être en lien avec la diminution de la perception trigéminale dans les TONP. Le patron de connectivité fonctionnel est aussi différent lorsque comparé entre des patients avec la MP et avec des TONP. Plus spécifiquement, la connectivité est réduite entre le cortex piriforme gauche et l'amygdale gauche dans la MP, deux régions connues pour être impliquées dans la pathologie et le trouble de l'odorat associé à la MP (Baba *et al.*, 2011).

Ce qui permet d'expliquer, en partie, ces résultats est le fait que la modularité des modules fonctionnels identifiés s'est avérée être significativement plus élevée dans la MP comparativement aux patients avec des TONP et aux contrôles. Une modularité plus élevée sous-entend une connectivité plus forte au sein d'un module, accompagnée d'une connectivité réduite entre les différents modules. La distribution des modules identifiés étant aussi différente dans la MP, le cortex piriforme et l'insula médiale étant interchangeables de modules. Ceci explique aussi la réduction de la connectivité entre l'amygdale et le cortex piriforme, puisqu'ils se retrouvent dans différents modules dans la MP comparativement aux TONP. Une modularité augmentée est une indication d'un traitement plus efficace et mieux ségrégué qui permet d'effectuer diverses fonctions spécialisées (Sporns et Zwi, 2004; Sporns, 2011). Ces résultats suggèrent que les mécanismes sous-jacents à la réponse trigéminale impliquent que les patients avec la MP effectuent un traitement ségrégué en recrutant le réseau chimiosensoriel de façon particulière pour effectuer un traitement spécialisé de l'information trigéminale lors de la

réalisation d'une tâche qui repose sur la fonction trigéminal. En contraste, la modularité est demeurée inchangée chez les patients avec des TONP, aucun module n'ayant été identifié dans ce groupe. Ce mécanisme retrouvé dans la MP pourrait constituer un mécanisme de compensation permettant de pallier la perte olfactive, ce qui pourrait expliquer que la réponse trigéminal est intacte dans la MP en dépit de la perte de l'odorat. Pour mieux comprendre ces résultats, il est toutefois important de mieux comprendre et de regarder de plus près l'interaction entre les systèmes olfactif et trigéminal.

En somme, bien que la réponse trigéminal comportementale soit intacte dans la MP en comparaison aux contrôles, elle est significativement plus élevée lorsque comparée à des TONP. Les réponses électrophysiologiques centrale et périphérique suggèrent aussi une altération spécifique du système trigéminal dans la MP, démontrant une latence du signal périphérique plus rapide et une amplitude de la réponse centrale plus large dans la MP lorsque ces patients sont comparés à des patients avec d'autres TONP. De plus, la connectivité fonctionnelle est similaire aux contrôles lors de la réalisation d'une tâche trigéminal, en contraste aux TONP. En outre, la modularité au sein du réseau chimiosensoriel est plus élevée dans la MP, en comparaison aux contrôles et aux TONP, démontrant ainsi la mise en place de mécanismes spécifiques dans la MP.

8.4. L'interaction entre le système olfactif et trigéminal ainsi que son altération

8.4.1. Interaction dans le cas d'un système olfactif fonctionnel

Nous avons préalablement bien introduit que les systèmes olfactif et trigéminal interagissent étroitement ensemble pour la perception de stimulus chimiosensoriels. Cette interaction est toutefois plus complexe qu'elle ne peut le sembler et il est parfois difficile d'anticiper si un des deux systèmes entraînera une suppression ou une amplification de la réponse de l'autre système. Afin de mieux comprendre l'effet du système olfactif sur le système trigéminal dans une population saine, nous avons évalué l'effet de l'ajout d'une odeur pure sur la capacité à localiser un stimulus trigéminal mixte en utilisant un paradigme de co-stimulation. Nous avons ainsi démontré qu'une odeur pure augmente la capacité à localiser un stimulus

trigéminal, c'est-à-dire que le système olfactif a un effet d'amplification de la réponse trigéminal dans un modèle d'étude présentant un système olfactif complètement fonctionnel. Ce résultat est en lien avec des études précédentes démontrant une réponse amplifiée lors de la stimulation des deux systèmes simultanément (Boyle *et al.*, 2007a).

Dans notre étude, la co-stimulation ipsilatérale, mais pas la co-stimulation contralatérale, a permis d'augmenter le résultat au test de latéralisation trigéminal suggérant la présence d'une interaction périphérique. Ce résultat est possiblement en lien avec la présence de connexions neuroanatomiques entre les systèmes olfactif et trigéminal au niveau de l'épithélium olfactif, celui-ci étant innervé par les branches du nerf trigéminal (Bouvet *et al.*, 1987; Daiber *et al.*, 2013). Nous avons également émis l'hypothèse que la co-stimulation olfactive contralatérale mènerait aussi à une augmentation de la performance au test de latéralisation trigéminal démontrant ainsi une interaction centrale, comme démontrée par d'autres études comportementales et suggérée par les résultats de neuroimagerie par IRMf (Boyle *et al.*, 2007a; Cain et Murphy, 1980). Nos résultats n'excluent toutefois pas la présence d'une interaction centrale, le test de latéralisation n'étant peut-être pas une mesure assez sensible pour mesurer cette interaction. Des études avec un paradigme de co-stimulation similaire impliquant l'enregistrement électroencéphalographique pourraient permettre de mieux identifier la présence d'une interaction centrale.

8.4.2. Interaction dans le cas d'un système olfactif altéré associé à un TONP

Ce modèle d'amplification du système trigéminal par le système olfactif chez des patients avec un système olfactif fonctionnel a des implications importantes pour comprendre la réduction de la perception trigéminal qui est observée chez des patients avec un système olfactif altéré. En effet, les études sur l'interaction entre le système olfactif et trigéminal menées jusqu'à maintenant démontrent qu'un système olfactif fonctionnel est nécessaire pour une fonctionnalité complète du système trigéminal, diverses publications démontrant une réduction de la sensibilité trigéminal chez des patients avec diverses étiologies de troubles de l'odorat (Hummel *et al.*, 2003b). Il semble donc logique que l'absence de l'amplification de la réponse

trigéminal en raison d'un système olfactif altéré entraîne une diminution de la réponse trigéminal.

8.4.2.1. Modèle d'interaction proposé dans le TONP

Un modèle d'interaction a été proposé chez des patients avec un TONP à suite de l'étude électrophysiologique chez ces patients en comparaison avec des contrôles. Chez ces patients, les études ont démontré que la réponse EEG trigéminal centrale est réduite et la réponse périphérique est augmentée. Il est ainsi stipulé que la réponse trigéminal centrale est amplifiée par le système olfactif alors que la réponse trigéminal périphérique serait normalement inhibée par le système olfactif dans le cas d'un système olfactif complètement fonctionnel (Frasnelli *et al.*, 2007a). Ainsi dans le cas d'un système olfactif altéré, le manque d'information olfactive mènerait (1) à une diminution de la réponse centrale et (2) à une désinhibition périphérique reflétée par un signal périphérique augmenté.

Bien qu'il soit logique que la réponse centrale soit réduite dans le trouble de l'odorat, il n'est toujours pas clair pourquoi la réponse périphérique est augmentée plutôt que diminuée. La seule étude ayant évalué la réponse périphérique chez ces patients a proposé un modèle d'interaction entre les systèmes trigéminal et olfactif dans les TONP qui impliquerait une modulation de la réponse trigéminal au niveau du bulbe olfactif. Ce modèle pourrait être expliqué par des connexions neuroanatomiques, puisque des collatérales du nerf trigéminal retournent vers le SNC et se retrouvent dans la couche glomérulaire du bulbe olfactif (Schaefer *et al.*, 2002). Il a été spéculé que ces neurones trigéminaux dans le bulbe olfactif peuvent potentiellement recevoir de l'information du système olfactif via l'activation des neurones olfactifs de la couche glomérulaire qui entraînerait une stimulation constante du système trigéminal (Christie et Westbrook, 2006). Celle-ci serait normalement compensée par une réduction de la réactivité du système trigéminal en périphérie (inhibition périphérique) (Dalton *et al.*, 2006). Ainsi le manque d'information olfactive empêcherait l'inhibition périphérique menant à une surrégulation compensatoire en périphérie du nerf trigéminal d'où la réponse amplifiée (Frasnelli *et al.*, 2007a). Ce modèle proposé étant toutefois spéculatif et il doit ainsi être testé, par exemple dans des modèles animaux. En outre, en plus d'une modulation par le bulbe olfactif, comme des altérations périphériques sont présentes dans les TONP, il est possiblement envisageable que des interactions locales liées à l'échange d'information entre le

système trigéminal et olfactif entraînent ces changements de la réponse périphérique (voir le modèle concernant les TONP, Figure 8.1).

8.4.3. Un modèle de l'interaction entre le système olfactif et trigéminal dans la MP

Il est donc extrêmement intéressant et surprenant d'observer que la réponse trigéminal dans un trouble de l'odorat associé à la MP est différente que dans d'autres TONP. Ce résultat impliquant, par conséquent, que les systèmes olfactif et trigéminal interagissent de façon différente dans la MP. Un modèle d'interaction spécifique serait donc présent dans la MP, en lien avec la pathologie sous-jacente associée à la MP et d'autres mécanismes de compensation impliqués.

En combinant les résultats obtenus dans cette thèse, nous avons donc tenté de proposer un modèle d'interaction dans la MP (voir Figure 8.1). Bien qu'il ne s'agisse que de spéculations, il est possible que la présence de pathologie de Lewy dans le bulbe olfactif, la réduction du volume du bulbe olfactif ainsi que d'autres altérations cellulaires comme l'augmentation de neurones dopaminergiques observées dans le bulbe olfactif puissent être à l'origine de l'altération olfactive (Braak *et al.*, 2004; Huisman *et al.*, 2004). Ces altérations peuvent en partie contribuer à la diminution de la transmission olfactive du bulbe olfactif vers les centres de traitements olfactifs d'où la réponse olfactive réduite ou absente. À la lumière de nos résultats, nous spéculons que cette atteinte affecterait seulement le 2^e niveau de traitement au sein du bulbe olfactif, n'affectant pas directement le système trigéminal périphérique ou sa modulation périphérique par le bulbe olfactif. Ainsi, l'inhibition périphérique resterait intacte et serait enclenchée par l'information olfactive qui peut encore se rendre au bulbe olfactif, laissant ainsi la réponse trigéminal périphérique intacte.

Toutefois, cette altération du bulbe olfactif pourrait empêcher la mise en place de l'amplification de la réponse trigéminal centrale par le système olfactif. La question qui persiste est donc pourquoi la réponse centrale est-elle préservée en l'absence de cette amplification olfactive? Pour tenter de répondre à cette question, il faut tenir compte du fait que diverses altérations du SNC ont été rapportées dans la MP. Notre hypothèse est que des altérations spécifiques du SNC dans la MP pourraient faire en sorte que l'interaction entre les zones de

traitement olfactives et trigéminales est altérée ce qui pourrait conséquemment entraîner une préservation de la réponse trigéminal en dépit d'une altération olfactive.

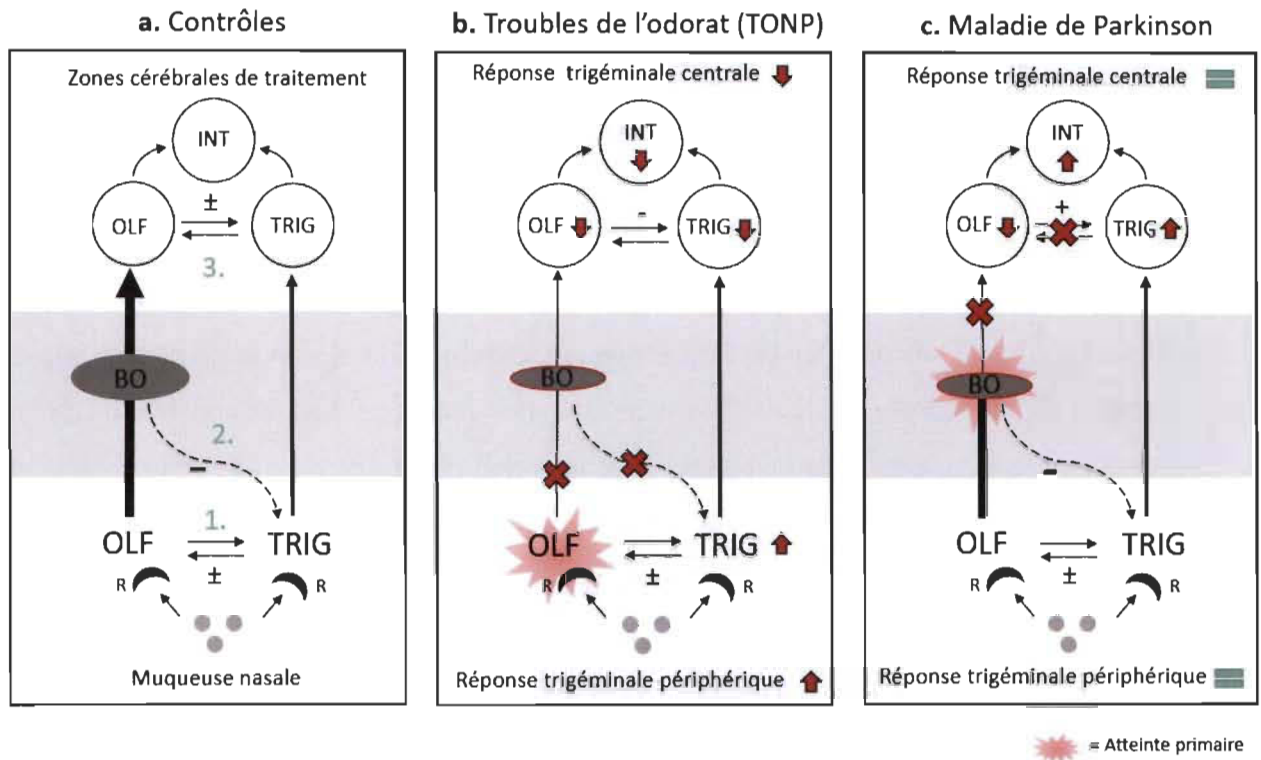
Lorsque nous regardons nos résultats de plus près, nous avons identifié une réduction de la connectivité fonctionnelle au repos, c'est-à-dire sans la réalisation d'une tâche particulière et sans stimulation chimiosensorielle, dans la MP en comparaison aux contrôles entre l'insula antérieure et médiale droite. L'insula est considérée comme un centre d'intégration multisensorielle et est impliquée dans le traitement chimiosensoriel des stimuli olfactifs et trigéminaux (Nieuwenhuys, 2012). Elle est aussi impliquée dans l'interaction chimiosensorielle, son activation étant plus forte lors d'une activation bimodale simultanée que lors de l'addition de la réponse trigéminal et olfactive séparément (Boyle *et al.*, 2007a). L'insula antérieure reçoit des projections du cortex piriforme et est principalement considérée comme un centre de traitement olfactif alors que l'insula médiale reçoit des projections somatosensorielles, reliées à l'information trigéminal et à la douleur. Une altération fonctionnelle de la connexion entre ces régions est conséquemment en lien direct avec la notion d'une altération de l'interaction entre des zones de traitements olfactives et trigéminales. De plus, lorsque les patients avec la MP sont spécifiquement comparés aux TONP, nous avons observé une augmentation de la connectivité fonctionnelle au repos entre le cortex piriforme droit et le gyrus post-central droit. Dans le même ordre d'idée, une altération entre le cortex piriforme, une zone de traitement olfactif primaire, et le gyrus post-central, une zone de traitement trigéminal, renforce l'idée d'une interaction chimiosensorielle spécifique. **Ainsi, déjà à l'état de repos, sans stimulation olfactive ou trigéminal, la communication fonctionnelle entre les zones de traitement olfactives et trigéminales est altérée dans la MP.**

Ces altérations fonctionnelles du système chimiosensoriel dans la MP peuvent être à l'origine d'une réponse trigéminal spécifique dans le trouble de l'odorat associé à la MP. Il est ainsi concevable que les régions de traitement de l'information trigéminal, dont l'insula et le gyrus post-central, reçoivent une stimulation constante des centres olfactifs liée à l'altération de la connectivité, en dépit d'une altération olfactive, menant ainsi à une réponse trigéminal amplifiée, ou inversement, ces centres ne reçoivent tout simplement pas d'information des centres olfactifs et conséquemment compenseraient par une réponse trigéminal constante.

À l'inverse aucune altération de la connectivité fonctionnelle n'a été observée au repos chez les patients avec des TONP lorsque comparés à des contrôles, en lien avec la littérature

existante (Kollndorfer *et al.*, 2015b). Ce qui expliquerait une réponse trigéminal centrale réduite dans les TONP liée simplement au manque d'amplification olfactive qui n'est pas compensé autrement.

Figure 8-1 : Modèle d'interaction entre le système olfactif et trigéminal proposé



Modèle d'interaction proposé : a. Chez des individus avec un odorat dans la normale : les systèmes olfactifs et trigéminaux interagissent au niveau 1. de la muqueuse nasale via l'innervation trigéminal de l'épithélium olfactif et la stimulation des deux types de récepteurs par les mêmes stimuli, 2. du bulbe olfactif via les collatérales du nerf trigéminal se dirigeant dans le bulbe olfactif pouvant potentiellement inhiber la réponse périphérique via un réflexe axonal et 3. du SNC via l'étroite connexion entre les zones de traitement olfactif et trigéminal menant à l'amplification de la réponse trigéminal dans les centres d'interaction et d'intégration multisensoriels (INT), expliquant ainsi une modulation de la réponse trigéminal périphérique et centrale par un système olfactif fonctionnel. b. Chez des patients avec un trouble de l'odorat non-parkinsonien (TONP) une atteinte du système olfactif périphérique peut affecter l'interaction périphérique entre les deux systèmes et entraîner une désinhibition

périphérique du bulbe olfactif d'où la réponse périphérique amplifiée. De plus, une diminution de l'information olfactive vers le SNC peut mener à la réduction de la réponse olfactive centrale et une absence l'amplification de la réponse trigéminal dans les centres d'interaction d'où la réponse trigéminal centrale et comportementale réduite. c. chez des patients avec la maladie de Parkinson : l'altération du bulbe olfactif entraîne une diminution de l'information olfactive vers les centres olfactifs d'où une réponse olfactive réduite. Puisque l'information olfactive périphérique peut se rendre au bulbe olfactif, la modulation périphérique resterait intacte d'où une réponse périphérique intacte. Des mécanismes de compensation centraux, dont l'altération de la connectivité fonctionnelle entre les centres de traitement olfactifs et trigéminaux et l'altération de la modularité, entraînent une amplification de la réponse trigéminal centrale qui est ainsi perçue comme similaire à celle des contrôles en dépit de la réponse olfactive diminuée.

BO= bulbe olfactif, Olf= système olfactif, Trig= système trigéminal, INT= centres d'interaction

8.4.3.1. Études futures proposées pour valider ce modèle.

Ce modèle d'interaction demeure toutefois spéculatif et différentes études sont nécessaires pour valider les mécanismes et les hypothèses sous-entendus dans ce modèle. Tout d'abord, puisque nous avons évalué la connectivité fonctionnelle entre des régions d'intérêt spécifiquement sélectionnées, il serait pertinent d'évaluer la connectivité fonctionnelle de régions spécifiques, soit de l'insula et du gyrus post-central séparément, avec tout le cerveau afin de mieux caractériser toutes les connexions possibles et d'évaluer la modularité au sein des réseaux observés chez ces trois groupes de participants. Dans le même ordre d'idée, pour caractériser l'atteinte centrale structurelle il serait pertinent d'évaluer l'intégrité des fibres de matière blanche entre ces régions olfactives et trigéminales en comparaison entre ces trois groupes de participants. Particulièrement dans le contexte de travaux récents démontrant des altérations de la matière blanche tôt dans le développement de la MP (Sobhani *et al.*, 2019). En outre, l'application d'un paradigme de co-stimulation trigéminal et olfactif comme utilisé dans l'étude 3, mais impliquant l'enregistrement central du signal EEG, chez des patients avec la MP en comparaison spécifique avec des TONP, permettrait de mieux caractériser la localisation de

l'interaction chez ces groupes ainsi que de mieux comprendre si la réponse trigéminal centrale est intacte ou amplifiée dans la MP.

Pour valider le modèle de modulation périphérique du bulbe olfactif, l'étude du modèle animal utilisant l'enregistrement de l'électroencéphalogramme, soit la réponse olfactive périphérique, semble idéale pour évaluer la présence d'une inhibition périphérique dans un modèle où le système olfactif est complètement fonctionnel et dans le cas d'un modèle animal de la MP ainsi que la présence d'une désinhibition dans le cas de TONP. De plus, l'étude post-mortem histologique approfondie des différentes couches du bulbe olfactif, de patients ayant eu la MP, permettrait d'identifier plus spécifiquement les niveaux de traitement atteints dans la MP. En outre, les nouvelles techniques disponibles permettant d'étudier l'activité EEG du bulbe olfactif sont aussi prometteuses pour évaluer l'atteinte fonctionnelle du bulbe olfactif dans ces trois groupes de participants afin de mieux caractériser le niveau de l'atteinte olfactive dans la MP en comparaison à d'autres troubles de l'odorat.

8.5. Limites, recherche et développements futurs

8.5.1. Phase prodromale et précoce la MP

Une limite importante des études présentées dans cette thèse est que les patients inclus dans ces études ont déjà obtenu un diagnostic de la MP et sont donc déjà atteints par la maladie depuis plusieurs années. Pour utiliser l'odorat et le système trigéminal comme potentiels marqueurs précoces de la maladie, il sera important dans des études futures d'étudier la sensibilité trigéminal chez des patients en phase préclinique de la MP, des patients récemment diagnostiqués et non médicamenteux ou des participants à haut risque de développer la MP tels que des patients avec un trouble de l'odorat idiopathique ou des patients avec un TCSP. En effet, diverses études ont relié l'altération de l'odorat à diverses altérations centrales, dans ces populations en phase précoce de la MP (Heldmann *et al.*, 2018; Sobhani *et al.*, 2019). Néanmoins, la fonction trigéminal n'y a toujours pas été évaluée. Il s'agit, en fait, de la première série d'études évaluant la sensibilité trigéminal dans la MP et plus spécifiquement en comparaison des TONP. Maintenant que nous avons identifié ce patron d'atteinte chimiosensorielle spécifique dans la MP, des études futures sont nécessaires pour identifier ce patron en phase prodromale de la MP. Nous suggérons donc que la prochaine étape de ces

travaux est de caractériser l'atteinte chimiosensorielle chez des patients avec un TCSP, une population à très haut risque de développer la MP et considérée comme idéale pour participer à des essais cliniques visant le développement de traitements neuroprotecteurs.

8.5.2. Développement d'outils de dépistage

Les travaux de cette thèse ne permettent pas présentement de développer des outils de dépistage de la maladie. Notre première étude a suggéré, en utilisant le test de comportemental de latéralisation, qu'un résultat au-delà de 30 sur 40 serait indicatif d'un patient avec la MP alors qu'un résultat inférieur serait indicatif d'un patient avec un TONP, avec une exactitude de 71%. Ce résultat est plutôt bas, c'est pourquoi d'autres études sont nécessaires pour mieux caractériser la fonction trigéminal dans ces populations avec des échantillons de participants plus grands. Toutefois, ces résultats rajoutent une caractéristique de plus pour mieux définir le profil clinique des patients.

Il est effectivement important de considérer la MP comme un tout avec tous ses symptômes. À des fins de développement d'outils de dépistage, plusieurs symptômes précoces et facteurs de risques de développement de la MP ont été identifiés, ils sont utilisés en combinaison pour calculer la probabilité de développement de la MP dans des algorithmes tels que le PREDICT-PD (Noyce *et al.*, 2017). Cet outil a été associé à un risque très élevé de développer la MP et par conséquent est très intéressant pour identifier des participants idéaux pour participer à des essais cliniques visant le développement de traitements potentiellement neuroprotecteurs (Marini *et al.*, 2020). Le trouble de l'odorat est inclus dans cet algorithme. Toutefois, comme l'évaluation du système trigéminal a le potentiel de différencier un trouble de l'odorat associé à la MP comparativement à d'autres TONP, il serait extrêmement intéressant d'ajouter un test d'évaluation du système trigéminal dans un tel algorithme de prédiction. Nos résultats suggèrent aussi que la perception rétronasale des saveurs lorsque comparée sous forme de ratio avec la perception olfactive orthonasale semble aussi pouvoir aider à différencier les patients avec la MP d'autres TONP (Aubry-Lafontaine *et al.*, 2020) (voir l'article présenté en Annexe 2). Nous suggérons donc que l'inclusion d'une batterie de tests évaluant la perception chimiosensorielle globale incluant une évaluation de l'olfaction, de la perception rétronasale, du système trigéminal et du goût pourrait permettre une meilleure spécificité pour la différenciation d'une

personne à risque de développer la MP particulièrement par rapport à d'autres troubles de l'odorat.

En outre, l'utilisation de techniques innovatrices d'apprentissage profond sur des données de neuroimagerie est très prometteuse pour aider au diagnostic précoce de la MP (Karapinar Senturk, 2020). De tels algorithmes ont, entre autres, été utilisés sur des mesures de l'odorat et du goût afin de prédire le risque de développer la MP chez des patients avec un trouble de l'odorat idiopathique (Lötsch *et al.*, 2019). Nous avons appliqué ces techniques sur des images IRM acquises pour la visualisation du volume du bulbe olfactif, ce qui a permis de correctement classer des images IRM reliées à un patient avec la MP d'images de patients avec un TONP avec une exactitude de 88.3%. Ces résultats renforcent l'idée que l'utilisation de l'apprentissage profond sur des images IRM de régions liées à l'odorat et/ ou la perception chimiosensorielle peuvent être utiles pour différencier les deux origines de troubles de l'odorat ce qui peut être extrêmement intéressant pour développer des outils de dépistage. Bien que ces résultats doivent être validés avec plus de participants et chez des patients en phase prodromale, ils suggèrent qu'il pourrait être intéressant d'ajouter une séquence IRM en pondération T2 pour l'imagerie du bulbe olfactif dans les protocoles de neuroimagerie existants. Il serait intéressant, dans des études futures, d'utiliser un modèle similaire tout en combinant plusieurs mesures telles que celles utilisées dans cette thèse, soit l'utilisation de tests de l'odorat, de la fonction trigéminal ainsi que des mesures de neuroimagerie issues de données EEG et IRM.

8.5.3. Mesure de la fonction trigéminal

Le test de latéralisation trigéminal est le test le plus couramment utilisé pour l'étude de la fonction trigéminal. Il est néanmoins important de considérer que ce test est une mesure semi-quantitative qui n'est pas très précise et présente ainsi quelques limitations. Le test est souvent réalisé de façon active, plutôt que passive, c'est-à-dire sans contrôle de la durée et l'intensité de l'inspiration et donc du nombre de molécules se rendant à la muqueuse nasale. Il nécessite l'utilisation d'un olfactomètre pour une meilleure précision, un outil sophistiqué disponible dans quelques laboratoires spécialisés seulement. De plus, puisque les participants ont toujours 50% de chance d'obtenir la bonne réponse à chaque identification de la narine stimulée, plusieurs

répétitions doivent être réalisées, ce qui allonge considérablement la durée du test à près de 30 minutes considérant les intervalles entre les stimulations pour éviter l'habituation à l'odeur.

Ainsi, pour inclure un test évaluant la fonction trigéminal dans un contexte clinique, le développement et la standardisation d'outils de mesure de la fonction trigéminal sont nécessaires. Quelques tentatives ont été réalisées pour développer et commercialiser des outils de mesure de la fonction trigéminal sans grand succès (Huart *et al.*, 2019a; Hummel *et al.*, 2016). Nos travaux suggèrent toutefois que des tests incluant l'évaluation du seuil de détection trigéminal sont prometteurs pour le développement d'outils avec une durée de passation plus courte (Jobin *et al.*, 2020) (Voir l'article présenté en Annexe 1). Comme nos résultats utilisant l'EEG ont aussi permis de discriminer le trouble de l'odorat associé à la MP d'autres TONP, l'utilisation de l'EEG pourrait permettre le développement d'outils peu coûteux, précis et indépendants de la réponse du participant pour évaluer la sensibilité trigéminal.

En somme, nos résultats bien qu'utiles pour différencier un trouble de l'odorat associé à la MP d'autres TONP, doivent être évalués dans des cohortes de participants en phase prodromale et précoce de la MP. Le développement d'une batterie de courts tests pouvant évaluer globalement la fonction chimiosensorielle, incluant une évaluation de la fonction trigéminal ainsi que la perception des saveurs, serait un outil de choix à inclure dans des algorithmes de prédiction, permettant ainsi une attention particulière sur les tests pouvant spécifiquement différencier le trouble de l'odorat associé à la MP du TONP.

Conclusion

L'objectif principal de cette thèse était d'apporter une meilleure compréhension du trouble de l'odorat associé à la MP dans le but de le différencier d'autres TONP, une étape importante avant de pouvoir utiliser l'olfaction comme marqueur précoce et potentiellement comme outil de dépistage de la MP. L'olfaction et la fonction trigéminal sont des sens chimiques, encore peu connus, dont leur fonction est de haute importance pour la perception de notre environnement dans la vie de tous les jours. Cette thèse avait donc aussi pour objectif de mieux comprendre le fonctionnement et l'interaction entre les systèmes olfactif et trigéminal dans un modèle où le système olfactif est complètement fonctionnel et chez des patients avec des troubles olfactifs associés à la MP ou à d'autres TONP.

Nous avons donc dans cette thèse étudié la fonction olfactive et trigéminal chez des patients atteints de la MP en les comparant spécifiquement à des patients avec des TONP. Dans une première étude comportementale, nous avons mis en évidence un patron de réponse spécifique dans la MP avec une réduction de la sensibilité olfactive en comparaison aux contrôles et une sensibilité trigéminal intacte en comparaison avec des TONP. Nos résultats d'EEG ont démontré que l'information trigéminal, périphérique et centrale, est traitée de façon spécifique dans la MP permettant de les différencier d'autres TONP. De plus, nos résultats ont démontré que le système olfactif a un effet d'amplification sur la réponse trigéminal, cette interaction entre les systèmes olfactif et trigéminal étant spécifiquement altérée dans MP lorsque comparée à des TONP. Cette thèse contribue à mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à la réponse trigéminal et olfactive dans la MP en mettant en évidence les régions cérébrales fonctionnellement altérées et les potentiels mécanismes impliqués lors de la réalisation d'une tâche trigéminal et olfactive. La contribution de cette thèse concerne ainsi l'apport de connaissances sur les d'interactions possibles dans le trouble de l'odorat associé à la MP en comparaison avec d'autres TONP et propose différentes études pour valider le modèle d'interaction proposé.

Enfin, lorsque considérés ensemble, nos travaux suggèrent que tester la fonction trigéminal pourra aider, à long terme, au développement d'outils de dépistage précoce visant l'identification de patients pouvant participer à des essais cliniques. Nous proposons que l'ajout

de tests chimiosensoriels, combinant des tests olfactifs, trigéminaux et rétronasaux, à des algorithmes de prédiction existants permettrait d'augmenter leur valeur prédictive en aidant la différenciation du trouble de l'odorat associé à la MP. De plus, nos résultats suggèrent que l'utilisation de techniques d'apprentissage profond appliquées sur des images IRM de régions olfactives, particulièrement du bulbe olfactif, peut aider à différencier un trouble de l'odorat associé à la MP d'autres TONP. Ces techniques sont donc intéressantes pour aider au développement d'outils de diagnostic en combinant diverses mesures chimiosensorielles. D'autres études sont encore nécessaires pour valider ces résultats dans des échantillons de participants plus grands et évaluer la présence de ce patron chimiosensoriel spécifique chez des participants à haut risque de développer la MP ainsi que chez des patients en phase prodromale de la MP.

Bibliographie

- Abolmaali ND, Hietschold V, Vogl TJ, Huttenbrink KB, Hummel T. 2002. MR evaluation in patients with isolated anosmia since birth or early childhood. *AJNR Am J Neuroradiol.* 23: 157-64.
- Adler CH, Beach TG, Hentz JG, Shill HA, Caviness JN, Driver-Dunckley E, et al. 2014. Low clinical diagnostic accuracy of early vs advanced Parkinson disease: clinicopathologic study. *Neurology.* 83: 406-12, Doi:10.1212/wnl.0000000000000641.
- Adler CH, Beach TG. 2016. Neuropathological basis of nonmotor manifestations of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 31: 1114-9, Doi:10.1002/mds.26605.
- Al Aïn S, Frasnelli J, 2017. Intranasal trigeminal chemoreception. In: *Conn's Translational Neuroscience.* P. Michael Conn ed., Academic Press, pp. 379-397.
- Albrecht J, Kopietz R, Linn J, Sakar V, Anzinger A, Schreder T, et al. 2009. Activation of olfactory and trigeminal cortical areas following stimulation of the nasal mucosa with low concentrations of S (-)-nicotine vapor—An fMRI study on chemosensory perception. *Hum Brain Mapp.* 30: 699-710, Doi: 10.1002/hbm.20535
- Albrecht J, Kopietz R, Frasnelli J, Wiesmann M, Hummel T, Lundstrom JN. 2010. The neuronal correlates of intranasal trigeminal function-an ALE meta-analysis of human functional brain imaging data. *Brain Res Rev.* 62: 183-96, Doi:10.1016/j.brainresrev.2009.11.001.
- Altınay S, Oner S, Can S, Kizilay A, Kamisli S, Sarac K. 2014. Olfactory dysfunction and its relation olfactory bulb volume in Parkinson's disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 18: 3659-64.
- Arnold SE, Lee EB, Moberg PJ, Stutzbach L, Kazi H, Han L-Y, et al. 2010. Olfactory epithelium amyloid- β and paired helical filament-tau pathology in Alzheimer disease. *Ann Neurol.* 67: 462-469, Doi:10.1002/ana.21910.
- Atanasova B, Graux J, El Hage W, Hommet C, Camus V, Belzung C. 2008. Olfaction: a potential cognitive marker of psychiatric disorders. *Neurosci Biobehav Rev.* 32: 1315-1325, Doi: 10.1016/j.neubiorev.2008.05.003
- Attems J, Walker L, Jellinger KA. 2015. Olfaction and Aging: A Mini-Review. *Gerontology.* 61: 485-90, Doi:10.1159/000381619.

- Aubry-Lafontaine E, Tremblay C, Durand-Martel P, Dupre N, Frasnelli J. 2020. Orthonasal, but not Retronasal Olfaction Is Specifically Impaired in Parkinson's Disease. *Chem Senses*. 45: 401-406, Doi:10.1093/chemse/bjaa024.
- Baba T, Takeda A, Kikuchi A, Nishio Y, Hosokai Y, Hirayama K, et al. 2011. Association of olfactory dysfunction and brain. Metabolism in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 26: 621-8, Doi:10.1002/mds.23602.
- Baba T, Kikuchi A, Hirayama K, Nishio Y, Hosokai Y, Kanno S, et al. 2012. Severe olfactory dysfunction is a prodromal symptom of dementia associated with Parkinson's disease: a 3 year longitudinal study. *Brain*. 135: 161-169, Doi:10.1093/brain/awr321.
- Barz S, Hummel T, Pauli E, Majer M, Lang CJ, Kobal G. 1997. Chemosensory event-related potentials in response to trigeminal and olfactory stimulation in idiopathic Parkinson's disease. *Neurology*. 49: 1424-31, Doi: 10.1212/wnl.49.5.1424.
- Beach TG, Adler CH, Lue L, Sue LI, Bachalakuri J, Henry-Watson J, et al. 2009a. Unified staging system for Lewy body disorders: correlation with nigrostriatal degeneration, cognitive impairment and motor dysfunction. *Acta Neuropathol*. 117: 613-34, Doi:10.1007/s00401-009-0538-8.
- Beach TG, White CL, 3rd, Hladik CL, Sabbagh MN, Connor DJ, Shill HA, et al. 2009b. Olfactory bulb alpha-synucleinopathy has high specificity and sensitivity for Lewy body disorders. *Acta Neuropathol*. 117: 169-74, Doi:10.1007/s00401-008-0450-7.
- Beach TG, Adler CH, Sue LI, Vedders L, Lue L, White III CL, et al. 2010. Multi-organ distribution of phosphorylated α -synuclein histopathology in subjects with Lewy body disorders. *Acta neuropathologica*. 119: 689-702, Doi: 10.1007/s00401-010-0664-3.
- Benarroch EE. 2010. Olfactory system: functional organization and involvement in neurodegenerative disease. *Neurology*. 75: 1104-9, Doi: 10.1212/WNL.0b013e3181f3db84.
- Berendse HW, Ponsen MM. 2006. Detection of preclinical Parkinson's disease along the olfactory tract. *J Neural Transm Suppl*. : 321-5, Doi: 10.1007/978-3-211-45295-0_48.
- Berendse HW, Roos DS, Raijmakers P, Doty RL. 2011. Motor and non-motor correlates of olfactory dysfunction in Parkinson's disease. *J Neurol Sci*. 310: 21-4, Doi:10.1016/j.jns.2011.06.020.

- Berg D, Seppi K, Behnke S, Liepelt I, Schweitzer K, Stockner H, et al. 2011. Enlarged substantia nigra hyperechogenicity and risk for Parkinson disease: a 37-month 3-center study of 1847 older persons. *Arch Neurol.* 68: 932-937, Doi: 10.1001/archneurol.2011.141.
- Berg D, Godau J, Seppi K, Behnke S, Liepelt-Scarfone I, Lerche S, et al. 2013. The PRIPS study: screening battery for subjects at risk for Parkinson's disease. *Eur J Neurol.* 20: 102-8, Doi:10.1111/j.1468-1331.2012.03798.x.
- Berg D, Postuma RB, Adler CH, Bloem BR, Chan P, Dubois B, et al. 2015. MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease. *Mov Disord.* 30: 1600-11, Doi:10.1002/mds.26431.
- Bergamino M, Keeling EG, Mishra VR, Stokes AM, Walsh RR. 2020. Assessing White Matter Pathology in Early-Stage Parkinson Disease Using Diffusion MRI: A Systematic Review. *Front Neurol.* 11: 314, Doi:10.3389/fneur.2020.00314.
- Bessi res B, Nicole O, Bontempi B. 2017. Assessing recent and remote associative olfactory memory in rats using the social transmission of food preference paradigm. *Nat Protoc.* 12: 1415-1436, Doi:10.1038/nprot.2017.050.
- Bloch A, Probst A, Bissig H, Adams H, Tolnay M. 2006. α -Synuclein pathology of the spinal and peripheral autonomic nervous system in neurologically unimpaired elderly subjects. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 32: 284-295, Doi: 10.1111/j.1365-2990.2006.00727.x.
- Boesveldt S, Verbaan D, Knol DL, Visser M, van Rooden SM, van Hilten JJ, et al. 2008. A comparative study of odor identification and odor discrimination deficits in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 23: 1984-90, Doi:10.1002/mds.22155.
- Bohnen NI, Gedela S, Kuwabara H, Constantine GM, Mathis CA, Studenski SA, et al. 2007. Selective hyposmia and nigrostriatal dopaminergic denervation in Parkinson's disease. *J Neurol.* 254: 84-90, Doi: 10.1007/s00415-006-0284-y.
- Bohnen NI, Gedela S, Herath P, Constantine GM, Moore RY. 2008a. Selective hyposmia in Parkinson disease: association with hippocampal dopamine activity. *Neurosci Lett.* 447: 12-16, Doi : 10.1016/j.neulet.2008.09.070.
- Bohnen NI, Studenski SA, Constantine GM, Moore RY. 2008b. Diagnostic performance of clinical motor and non-motor tests of Parkinson disease: a matched case-control study. *Eur J Neurol.* 15: 685-91, Doi:10.1111/j.1468-1331.2008.02148.x.

- Bohnen NI, Müller MLTM, Kotagal V, Koeppe RA, Kilbourn MA, Albin RL, et al. 2010. Olfactory dysfunction, central cholinergic integrity and cognitive impairment in Parkinson's disease. *Brain*. 133: 1747-1754, Doi:10.1093/brain/awq079.
- Bohnen NI, Albin RL. 2011. The cholinergic system and Parkinson disease. *Behav Brain Res*. 221: 564-73, Doi:10.1016/j.bbr.2009.12.048.
- Bohnen NI, Muller ML. 2013. In vivo neurochemical imaging of olfactory dysfunction in Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 120: 571-6, Doi:10.1007/s00702-012-0956-y.
- Borghammer P. 2018. How does parkinson's disease begin? Perspectives on neuroanatomical pathways, prions, and histology. *Mov Disord*. 33: 48-57, Doi:10.1002/mds.27138.
- Borghammer P, Van Den Berge N. 2019. Brain-First versus Gut-First Parkinson's Disease: A Hypothesis. *J Parkinsons Dis*. 9: S281-S295, Doi: 10.3233/JPD-191721.
- Bouvet J-F, Delaleu J-C, Holley A. 1988. The activity of olfactory receptor cells is affected by acetylcholine and substance P. *Neurosci Res*. 5: 214-223, Doi: 10.1016/0168-0102(88)90050-8.
- Bouvet JF, Delaleu JC, Holley A. 1987. Olfactory receptor cell function is affected by trigeminal nerve activity. *Neurosci Lett*. 77: 181-6, Doi : 10.1016/0304-3940(87)90583-0
- Boyle JA, Frasnelli J, Gerber J, Heinke M, Hummel T. 2007a. Cross-modal integration of intranasal stimuli: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroscience*. 149: 223-31, Doi:10.1016/j.neuroscience.2007.06.045.
- Boyle JA, Heinke M, Gerber J, Frasnelli J, Hummel T. 2007b. Cerebral activation to intranasal chemosensory trigeminal stimulation. *Chem Senses*. 32: 343-53, Doi:10.1093/chemse/bjm004.
- Braak H, Del Tredici K, Bratzke H, Hamm-Clement J, Sandmann-Keil D, Rüb U. 2002. Staging of the intracerebral inclusion body pathology associated with idiopathic Parkinson's disease (preclinical and clinical stages). *J Neurol*. 249: iii1-iii5, Doi: 10.1007/s00415-002-1301-4
- Braak H, Del Tredici K, Rub U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E. 2003a. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 24: 197-211, Doi: 10.1016/s0197-4580(02)00065-9.

- Braak H, Rub U, Gai WP, Del Tredici K. 2003b. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *J Neural Transm (Vienna)*. 110: 517-36, Doi:10.1007/s00702-002-0808-2.
- Braak H, Ghebremedhin E, Rub U, Bratzke H, Del Tredici K. 2004. Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. *Cell Tissue Res*. 318: 121-34, Doi:10.1007/s00441-004-0956-9.
- Bramerson A, Johansson L, Ek L, Nordin S, Bende M. 2004. Prevalence of olfactory dysfunction: the skovde population-based study. *Laryngoscope*. 114: 733-7, Doi:10.1097/00005537-200404000-00026.
- Brann JH, Firestein SJ. 2014. A lifetime of neurogenesis in the olfactory system. *Front Neurosci*. 8: 182, Doi:10.3389/fnins.2014.00182.
- Brás IC, Xylaki M, Outeiro TF. 2020. Mechanisms of alpha-synuclein toxicity: An update and outlook. *Prog Brain Res*. 252: 91-129, Doi:10.1016/bs.pbr.2019.10.005.
- Breen DP, Lang AE. 2017. Tracking the course of prodromal Parkinson's disease. *Brain*. 140: 259-262, Doi:10.1093/brain/aww321.
- Brodoehl S, Klingner C, Volk GF, Bitter T, Witte OW, Redecker C. 2012. Decreased olfactory bulb volume in idiopathic Parkinson's disease detected by 3.0-tesla magnetic resonance imaging. *Mov Disord*. 27: 1019-25, Doi:10.1002/mds.25087.
- Bullich C, Keshavarzian A, Garssen J, Kraneveld A, Perez-Pardo P. 2019. Gut Vibes in Parkinson's Disease: The Microbiota-Gut-Brain Axis. *Mov Disord Clin Pract*. 6: 639-651, Doi:10.1002/mdc3.12840.
- Burmeister HP, Baltzer PA, Moslein C, Bitter T, Gudziol H, Dietzel M, et al. 2011a. Reproducibility and repeatability of volumetric measurements for olfactory bulb volumetry: which method is appropriate? An update using 3 Tesla MRI. *Acad Radiol*. 18: 842-9, Doi:10.1016/j.acra.2011.02.018.
- Burmeister HP, Baltzer PA, Möslin C, Bitter T, Gudziol H, Dietzel M, et al. 2011b. Visual grading characteristics (VGC) analysis of diagnostic image quality for high resolution 3 Tesla MRI volumetry of the olfactory bulb. *Acad Radiol*. 18: 634-9, Doi:10.1016/j.acra.2010.12.011.

- Buschhuter D, Smitka M, Puschmann S, Gerber JC, Witt M, Abolmaali ND, et al. 2008. Correlation between olfactory bulb volume and olfactory function. *Neuroimage*. 42: 498-502, Doi:10.1016/j.neuroimage.2008.05.004.
- Cagac A. 2020. Farming, well water consumption, rural living, and pesticide exposure in early life as the risk factors for Parkinson disease in Igdir province. *Neurosciences (Riyadh)*. 25: 129-133, Doi:10.17712/nsj.2020.2.20190104.
- Cain WS, Murphy CL. 1980. Interaction between chemoreceptive modalities of odour and irritation. *Nature*. 284: 255-7, Doi: 10.1038/284255a0.
- Campabadal A, Uribe C, Segura B, Baggio HC, Abos A, Garcia-Diaz AI, et al. 2017. Brain correlates of progressive olfactory loss in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 41: 44-50, Doi:10.1016/j.parkreldis.2017.05.005.
- Cavaco S, Gonçalves A, Mendes A, Vila-Chã N, Moreira I, Fernandes J, et al. 2015. Abnormal Olfaction in Parkinson's Disease Is Related to Faster Disease Progression. *Behav Neurol*. 2015: 976589, Doi:10.1155/2015/976589.
- Cavazzana A, Larsson M, Münch M, Hähner A, Hummel T. 2018. Postinfectious olfactory loss: A retrospective study on 791 patients. *Laryngoscope*. 128: 10-15, Doi:10.1002/lary.26606.
- Cecchini MP, Osculati F, Ottaviani S, Boschi F, Fasano A, Tinazzi M. 2014. Taste performance in Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 121: 119-22, Doi:10.1007/s00702-013-1089-7.
- Cerasa A, Novellino F, Quattrone A. 2016. Connectivity Changes in Parkinson's Disease. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 16: 91-91, Doi:10.1007/s11910-016-0687-9.
- Chen CR, Kachramanoglou C, Li D, Andrews P, Choi D. 2014a. Anatomy and cellular constituents of the human olfactory mucosa: a review. *J Neurol Surg B Skull Base*. 75: 293, Doi: 10.1055/s-0033-1361837
- Chen S, Tan H-y, Wu Z-h, Sun C-p, He J-x, Li X-c, et al. 2014b. Imaging of olfactory bulb and gray matter volumes in brain areas associated with olfactory function in patients with Parkinson's disease and multiple system atrophy. *Eur J Radiol*. 83: 564-570, Doi:10.1016/j.ejrad.2013.11.024.
- Chen W, Tan Y-Y, Hu Y-Y, Zhan W-W, Wu L, Lou Y, et al. 2012. Combination of olfactory test and substantia nigra transcranial sonography in the differential diagnosis of

- Parkinson's disease: a pilot study from China. *Transl Neurodegener.* 1: 25, Doi: 10.1186/2047-9158-1-25.
- Chen X, Hou X, Luo X, Zhou S, Liu X, Liu B, et al. 2019. Altered Intra- and Inter-regional Functional Connectivity of the Anterior Cingulate Gyrus in Patients With Tremor-Dominant Parkinson's Disease Complicated With Sleep Disorder. *Front Aging Neurosci.* 11: 319-319, Doi:10.3389/fnagi.2019.00319.
- Cheng F, Vivacqua G, Yu S. 2011. The role of alpha-synuclein in neurotransmission and synaptic plasticity. *J Chem Neuroanat.* 42: 242-248, Doi: 10.1016/j.jchemneu.2010.12.001.
- Chou KL, Bohnen NI. 2009. Performance on an Alzheimer-selective odor identification test in patients with Parkinson's disease and its relationship with cerebral dopamine transporter activity. *Parkinsonism Relat Disord.* 15: 640-643, Doi: 10.1016/j.parkreldis.2009.03.004.
- Christie JM, Westbrook GL. 2006. Lateral excitation within the olfactory bulb. *J Neurosci.* 26: 2269-2277, Doi: 10.1523/JNEUROSCI.4791-05.2006.
- Cleland T, Linster C. 2003. Central olfactory processing. *Handbook of olfaction and gustation.* Vol. 2, John Wiley & Sons eds., CRC Press, pp.165-180.
- Cleland TA, Linster C. 2005. Computation in the olfactory system. *Chem senses.* 30: 801-813, Doi: 10.1093/chemse/bji072.
- Cleland TA, Linster C, 2019. Central olfactory structures. In: *Handbook of clinical neurology.* Vol. 164, Richard L. Doty ed. Elsevier, pp. 79-96.
- Coelho DH, Costanzo RM. 2016. Posttraumatic olfactory dysfunction. *Auris Nasus Larynx.* 43: 137-143, Doi:https://doi.org/10.1016/j.anl.2015.08.006.
- Costanzo RM, Miwa T, 2006. Posttraumatic olfactory loss. In: *Taste and Smell.* Vol. 63, Karger Medical and Scientific Publishers eds. pp. 99-107.
- Crespo Cuevas AM, Ispuerto L, Vilas D, Planas A, Planas A, Isern I, et al. 2018. Distinctive Olfactory Pattern in Parkinson's Disease and Non-Neurodegenerative Causes of Hyposmia. *Neurodegener Dis.* 18: 143-149, Doi:10.1159/000488680.
- Croy I, Nordin S, Hummel T. 2014a. Olfactory disorders and quality of life--an updated review. *Chem Senses.* 39: 185-94, Doi:10.1093/chemse/bjt072.

- Croy I, Schulz M, Blumrich A, Hummel C, Gerber J, Hummel T. 2014b. Human olfactory lateralization requires trigeminal activation. *Neuroimage*. 98: 289-95, Doi:10.1016/j.neuroimage.2014.05.004.
- Daiber P, Genovese F, Schriever VA, Hummel T, Mohrlen F, Frings S. 2013. Neuropeptide receptors provide a signalling pathway for trigeminal modulation of olfactory transduction. *Eur J Neurosci*. 37: 572-82, Doi:10.1111/ejn.12066.
- Dalton P, Dilks D, Hummel T. 2006. Effects of long-term exposure to volatile irritants on sensory thresholds, negative mucosal potentials, and event-related potentials. *Behav Neurosci*. 120: 180, Doi: 10.1037/0735-7044.120.1.180
- Daniel S, Hawkes C. 1992. Preliminary diagnosis of Parkinson's disease by olfactory bulb pathology. *Lancet*. 340: 186, Doi:10.1016/0140-6736(92)93275-R.
- Deeb J, Shah M, Muhammed N, Gunasekera R, Gannon K, Findley L, et al. 2010. A basic smell test is as sensitive as a dopamine transporter scan: comparison of olfaction, taste and DaTSCAN in the diagnosis of Parkinson's disease. *QJM*. 103: 941-952, Doi: 10.1093/qjmed/hcq142.
- Desai M, Agadi J, Karthik N, Praveenkumar S, Netto A. 2015. Olfactory abnormalities in temporal lobe epilepsy. *J Clin Neurosci*. 22: 1614-1618, Doi: 10.1016/j.jocn.2015.03.035.
- Dickson DW, Uchikado H, Fujishiro H, Tsuboi Y. 2010. Evidence in favor of Braak staging of Parkinson's disease. *Mov Disord*. 25: S78-S82, Doi: 10.1002/mds.22637.
- Dolan RJ, Vuilleumier P. 2003. Amygdala automaticity in emotional processing. *Ann N Y Acad Sci*. 985: 348-55, Doi:10.1111/j.1749-6632.2003.tb07093.x.
- Dorsey ER, Constantinescu R, Thompson JP, Biglan KM, Holloway RG, Kieburtz K, et al. 2007. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. *Neurology*. 68: 384-6, Doi:10.1212/01.wnl.0000247740.47667.03.
- Doty RL. 1975. Intranasal trigeminal detection of chemical vapors by humans. *Physiol Behav*. 14: 855-9, Doi: 10.1016/0031-9384(75)90081-5.
- Doty RL, Shaman P, Applebaum SL, Giberson R, Siksorski L, Rosenberg L. 1984a. Smell identification ability: changes with age. *Science*. 226: 1441-1443, Doi: 10.1126/science.6505700.

- Doty RL, Shaman P, Dann M. 1984b. Development of the University of Pennsylvania Smell Identification Test: a standardized microencapsulated test of olfactory function. *Physiol Behav.* 32: 489-502, Doi: 10.1016/0031-9384(84)90269-5.
- Doty RL, Shaman P, Kimmelman CP, Dann MS. 1984c. University of Pennsylvania Smell Identification Test: a rapid quantitative olfactory function test for the clinic. *Laryngoscope.* 94: 176-178, Doi: 10.1288/00005537-198402000-00004
- Doty RL, Deems DA, Stellar S. 1988. Olfactory dysfunction in parkinsonism: a general deficit unrelated to neurologic signs, disease stage, or disease duration. *Neurology.* 38: 1237-44, Doi: 10.1212/wnl.38.8.1237
- Doty RL, Stern MB, Pfeiffer C, Gollomp SM, Hurtig HI. 1992. Bilateral olfactory dysfunction in early stage treated and untreated idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol, Neurosurgery & Psychiatry.* 55: 138-142, Doi: 10.1136/jnnp.55.2.138
- Doty RL, Smith R, McKeown DA, Raj J. 1994. Tests of human olfactory function: Principal components analysis suggests that most measure a common source of variance. *Percept Psychophys.* 56: 701-707, Doi:10.3758/BF03208363.
- Doty RL, Bromley SM, Stern MB. 1995. Olfactory testing as an aid in the diagnosis of Parkinson's disease: development of optimal discrimination criteria. *Neurodegeneration.* 4: 93-97, Doi: 10.1006/neur.1995.0011
- Doty RL, Marcus A, William Lee W. 1996. Development of the 12-item cross-cultural smell identification test (CC-SIT). *Laryngoscope.* 106: 353-356, Doi: 10.1097/00005537-199603000-00021.
- Doty RL, Bromley SM, Moberg PJ, Hummel T, 1997a. Laterality in human nasal chemoreception. In: *Advances in Psychology.* Vol. 123, Elsevier, pp. 497-542.
- Doty RL, Yousem DM, Pham LT, Kreshak AA, Geckle R, Lee WW. 1997b. Olfactory dysfunction in patients with head trauma. *Arch Neurol.* 54: 1131-1140, Doi: 10.1001/archneur.1997.00550210061014.
- Doty RL, Mishra A. 2001. Olfaction and its alteration by nasal obstruction, rhinitis, and rhinosinusitis. *Laryngoscope.* 111: 409-423, Doi: 10.1097/00005537-200103000-00008
- Doty RL, 2003. The olfactory system and the nasal mucosa as portals of entry of viruses, drugs, and other exogenous agents into the brain. In: *Handbook of Olfaction and Gustation.* Vol. 2, Taylor & Francis eds., CRC Press, pp. 979-1020.

- Doty RL. 2012a. Olfactory dysfunction in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol*. 8: 329-39, Doi:10.1038/nrneurol.2012.80.
- Doty RL. 2012b. Olfaction in Parkinson's disease and related disorders. *Neurobiol Dis*. 46: 527-552, Doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.nbd.2011.10.026.
- Doty RL, Kamath V. 2014. The influences of age on olfaction: a review. *Front Psychol*. 5: 20, Doi:10.3389/fpsyg.2014.00020.
- Doty RL. 2015. Clinical disorders of olfaction. In: *Handbook of Olfaction and Gustation*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons eds., Inc. : 375-402.
- Doty RL. 2017. Olfactory dysfunction in neurodegenerative diseases: is there a common pathological substrate? *Lancet Neurol*. 16: 478-488, Doi:10.1016/s1474-4422(17)30123-0.
- Doty RL, Hawkes CH. 2019. Chemosensory dysfunction in neurodegenerative diseases. *Handbook of clinical neurology*. 164: 325-360, Doi:10.1016/B978-0-444-63855-7.00020-4.
- Duda JE, Shah U, Arnold SE, Lee VMY, Trojanowski JQ. 1999. The Expression of α -, β -, and γ -Synucleins in Olfactory Mucosa from Patients with and without Neurodegenerative Diseases. *Exp Neurol*. 160: 515-522, Doi:https://doi.org/10.1006/exnr.1999.7228.
- Engelender S, Isacson O. 2017. The Threshold Theory for Parkinson's Disease. *Trends Neurosci*. 40: 4-14, Doi:10.1016/j.tins.2016.10.008.
- Fields CR, Bengoa-Vergniory N, Wade-Martins R. 2019. Targeting Alpha-Synuclein as a Therapy for Parkinson's Disease. *Front Mol Neurosci*. 12: 299, Doi:10.3389/fnmol.2019.00299.
- Fingelkurts AA, Fingelkurts AA, Kähkönen S. 2005. Functional connectivity in the brain--is it an elusive concept? *Neurosci Biobehav Rev*. 28: 827-36, Doi:10.1016/j.neubiorev.2004.10.009.
- Fearnley JM, Lees AJ. 1991. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain*. 114 (Pt 5): 2283-301, Doi:10.1093/brain/114.5.2283.
- Finger TE, Getchell ML, Getchell TV, Kinnamon JC. 1990. Afferent and efferent functions of peptidergic innervation of the nasal cavity. In: *Chemical Senses: Irritation*, Mason JR, Kare MR (eds). Marcel Dekker, New York, pp. 1-20.

- Finger TE, Böttger B, Hansen A, Anderson KT, Alimohammadi H, Silver WL. 2003. Solitary chemoreceptor cells in the nasal cavity serve as sentinels of respiration. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 100: 8981-8986, Doi: 10.1073/pnas.1531172100.
- Fonteyn S, Huart C, Deggouj N, Collet S, Eloy P, Rombaux P. 2014. Non-sinonasal-related olfactory dysfunction: a cohort of 496 patients. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*. 131: 87-91, Doi: 10.1016/j.anorl.2013.03.006.
- Foster J, Sohrabi H, Verdile G, Martins R. 2008. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: genetic risk factors, blood biomarkers and olfactory dysfunction. *Int Psychogeriatr*. 20: 853-855, Doi: 10.1017/S1041610208006807.
- Frasnelli, Hummel T. 2007. Interactions between the chemical senses: Trigeminal function in patients with olfactory loss. *Int J Psychophysiol*. 65: 177-181, Doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2007.03.007>.
- Frasnelli, Schuster B, Hummel T. 2007a. Interactions between olfaction and the trigeminal system: what can be learned from olfactory loss. *Cereb Cortex*. 17: 2268-75, Doi:10.1093/cercor/bhl135.
- Frasnelli, Schuster B, Hummel T. 2007b. Subjects with congenital anosmia have larger peripheral but similar central trigeminal responses. *Cereb Cortex*. 17: 370-7, Doi:10.1093/cercor/bhj154.
- Frasnelli, Charbonneau G, Collignon O, Lepore F. 2009. Odor Localization and Sniffing. *Chem Senses*. 34: 139-144, Doi:10.1093/chemse/bjn068.
- Frasnelli J, Hummel T. 2003. Age-related decline of intranasal trigeminal sensitivity: is it a peripheral event? *Brain Res*. 987: 201-6, Doi: 10.1016/s0006-8993(03)03336-5.
- Frasnelli J, Hummel T. 2005. Olfactory dysfunction and daily life. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 262: 231-235, Doi:10.1007/s00405-004-0796-y.
- Frasnelli J, Schuster B, Zahnert T, Hummel T. 2006. Chemosensory specific reduction of trigeminal sensitivity in subjects with olfactory dysfunction. *Neuroscience*. 142: 541-6, Doi:10.1016/j.neuroscience.2006.06.005.
- Frasnelli J, Lundstrom JN, Boyle JA, Djordjevic J, Zatorre RJ, Jones-Gotman M. 2010a. Neuroanatomical correlates of olfactory performance. *Exp Brain Res*. 201: 1-11, Doi:10.1007/s00221-009-1999-7.

- Frasnelli J, Schuster B, Hummel T. 2010b. Olfactory dysfunction affects thresholds to trigeminal chemosensory sensations. *Neurosci Lett.* 468: 259-63, Doi:10.1016/j.neulet.2009.11.008.
- Frasnelli J, Fark T, Lehmann J, Gerber J, Hummel T. 2013. Brain structure is changed in congenital anosmia. *Neuroimage.* 83: 1074-80, Doi:10.1016/j.neuroimage.2013.07.070.
- Frasnelli J, Lague-Beauvais M, LeBlanc J, Alturki AY, Champoux MC, Couturier C, et al. 2016. Olfactory function in acute traumatic brain injury. *Clin Neurol Neurosurg.* 140: 68-72, Doi:10.1016/j.clineuro.2015.11.013.
- Friedland K, Harteneck C, 2017. Spices and Odorants as TRP Channel Activators. In: Springer Handbook of Odor, Germany; A. Buettner ed., Springer International Publishing, Cham, pp. 85-86.
- Fujishiro H, Tsuboi Y, Lin W-L, Uchikado H, Dickson DW. 2008. Co-localization of tau and α -synuclein in the olfactory bulb in Alzheimer's disease with amygdala Lewy bodies. *Acta Neuropathologica.* 116: 17, Doi:10.1007/s00401-008-0383-1.
- Fullard ME, Tran B, Xie SX, Toledo JB, Scordia C, Linder C, et al. 2016. Olfactory impairment predicts cognitive decline in early Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 25: 45-51, Doi:10.1016/j.parkreldis.2016.02.013.
- Funabe S, Takao M, Saito Y, Hatsuta H, Sugiyama M, Ito S, et al. 2013. Neuropathologic analysis of Lewy-related α -synucleinopathy in olfactory mucosa. *Neuropathology.* 33: 47-58, Doi:10.1111/j.1440-1789.2012.01329.x.
- Gaig C, Tolosa E. 2009. When does Parkinson's disease begin? *Mov Disord.* 24 Suppl 2: S656-64, Doi:10.1002/mds.22672.
- Gellrich J, Han P, Manesse C, Betz A, Junghanns A, Raue C, et al. 2018. Brain volume changes in hyposmic patients before and after olfactory training. *Laryngoscope.* 128: 1531-1536, Doi: 10.1002/lary.27045.
- Gelpi E, Navarro-Otano J, Tolosa E, Gaig C, Compta Y, Rey MJ, et al. 2014. Multiple organ involvement by alpha-synuclein pathology in Lewy body disorders. *Mov Disord.* 29: 1010-1018, Doi: 10.1002/mds.25776
- Genovese F, Bauersachs HG, Grasser I, Kupke J, Magin L, Daiber P, et al. 2016. Possible role of calcitonin gene-related peptide in trigeminal modulation of glomerular microcircuits of the rodent olfactory bulb. *Eur J Neurosci.* Doi:10.1111/ejn.13490.

- Georgiopoulos C, Witt ST, Haller S, Dizdar N, Zachrisson H, Engstrom M, et al. 2019. A study of neural activity and functional connectivity within the olfactory brain network in Parkinson's disease. *Neuroimage Clin.* 23: 101946, Doi:10.1016/j.nicl.2019.101946.
- Goedert M, Spillantini MG, Del Tredici K, Braak H. 2013. 100 years of Lewy pathology. *Nat Rev Neurol.* 9: 13-24, Doi:10.1038/nrneurol.2012.242.
- Gottfried JA, Smith AP, Rugg MD, Dolan RJ. 2004. Remembrance of odors past: human olfactory cortex in cross-modal recognition memory. *Neuron.* 42: 687-695, Doi: 10.1016/s0896-6273(04)00270-3.
- Gottfried JA, Zald DH. 2005. On the scent of human olfactory orbitofrontal cortex: meta-analysis and comparison to non-human primates. *Brain Res Rev.* 50: 287-304, Doi: 10.1016/j.brainresrev.2005.08.004.
- Gottfried JA. 2010. Central mechanisms of odour object perception. *Nat Rev Neurosci.* 11: 628-641, Doi: 10.1038/nrn2883.
- Guducu C, Taslica S, Cakmur R, Ozgoren M, Ikiz AO, Oniz A. 2015. Assessing Olfactory Function in Parkinson's Disease via Entropy Analysis of Chemosensory Event Related Potentials. *Tohoku J Exp Med.* 237: 111-6, Doi:10.1620/tjem.237.111.
- Gudziol H, Schubert M, Hummel T. 2001. Decreased trigeminal sensitivity in anosmia. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 63: 72-5, Doi:10.1159/000055713.
- Gudziol V, Buschhüter D, Abolmaali N, Gerber J, Rombaux P, Hummel T. 2009. Increasing olfactory bulb volume due to treatment of chronic rhinosinusitis--a longitudinal study. *Brain.* 132: 3096-101, Doi:10.1093/brain/awp243.
- Güllmar D, Seeliger T, Gudziol H, Teichgräber UKM, Reichenbach JR, Guntinas-Lichius O, et al. 2017. Improvement of olfactory function after sinus surgery correlates with white matter properties measured by diffusion tensor imaging. *Neuroscience.* 360: 190-196, Doi:10.1016/j.neuroscience.2017.07.070.
- Haberly LB. 2001. Parallel-distributed processing in olfactory cortex: new insights from morphological and physiological analysis of neuronal circuitry. *Chem Senses.* 26: 551-576, Doi: 10.1093/chemse/26.5.551.
- Haehner A, Rodewald A, Gerber JC, Hummel T. 2008. Correlation of olfactory function with changes in the volume of the human olfactory bulb. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 134: 621-4, Doi:10.1001/archotol.134.6.621.

- Haehner A, Boesveldt S, Berendse HW, Mackay-Sim A, Fleischmann J, Silburn PA, et al. 2009a. Prevalence of smell loss in Parkinson's disease--a multicenter study. *Parkinsonism Relat Disord.* 15: 490-4, Doi:10.1016/j.parkreldis.2008.12.005.
- Haehner A, Hummel T, Reichmann H. 2009b. Olfactory dysfunction as a diagnostic marker for Parkinson's disease. *Expert Rev Neurother.* 9: 1773-9, Doi:10.1586/ern.09.115.
- Haehner A, Mayer AM, Landis BN, Pournaras I, Lill K, Gudziol V, et al. 2009c. High test-retest reliability of the extended version of the "Sniffin' Sticks" test. *Chem Senses.* 34: 705-11, Doi:10.1093/chemse/bjp057.
- Haehner A, Hummel T, Reichmann H. 2011. Olfactory loss in Parkinson's disease. *Parkinsons Dis.* 2011: 450939, Doi:10.4061/2011/450939.
- Haehner A, Tosch C, Wolz M, Klingelhoefer L, Fauser M, Storch A, et al. 2013. Olfactory training in patients with Parkinson's disease. *PLoS One.* 8: e61680, Doi:10.1371/journal.pone.0061680.
- Haehner A, Masala C, Walter S, Reichmann H, Hummel T. 2019. Incidence of Parkinson's disease in a large patient cohort with idiopathic smell and taste loss. *J Neurol.* 266: 339-345, Doi:10.1007/s00415-018-9135-x.
- Hakyemez HA, Veyseller B, Ozer F, Ozben S, Bayraktar GI, Gurbuz D, et al. 2013. Relationship of olfactory function with olfactory bulbus volume, disease duration and Unified Parkinson's disease rating scale scores in patients with early stage of idiopathic Parkinson's disease. *J Clin Neurosci.* 20: 1469-70, Doi:10.1016/j.jocn.2012.11.017.
- Hampson M, Peterson BS, Skudlarski P, Gatenby JC, Gore JC. 2002. Detection of functional connectivity using temporal correlations in MR images. *Hum Brain Mapp.* 15: 247-62, Doi:10.1002/hbm.10022.
- Han P, Whitcroft KL, Fischer J, Gerber J, Cuevas M, Andrews P, et al. 2017. Olfactory brain gray matter volume reduction in patients with chronic rhinosinusitis. *Int Forum Allergy Rhinol.* 7: 551-556, Doi:10.1002/alr.21922.
- Han P, Winkler N, Hummel C, Hähner A, Gerber J, Hummel T. 2018a. Impaired brain response to odors in patients with varied severity of olfactory loss after traumatic brain injury. *J Neurol.* 265: 2322-2332, Doi:10.1007/s00415-018-9003-8.

- Han P, Winkler N, Hummel C, Hähner A, Gerber J, Hummel T. 2018b. Alterations of Brain Gray Matter Density and Olfactory Bulb Volume in Patients with Olfactory Loss after Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma*. 35: 2632-2640, Doi:10.1089/neu.2017.5393.
- Han P, Zang Y, Akshita J, Hummel T. 2019. Magnetic Resonance Imaging of Human Olfactory Dysfunction. *Brain Topogr*. 32: 987-997, Doi:10.1007/s10548-019-00729-5.
- Hang W, Liu G, Han T, Zhang P, Zhang J. 2015. [Olfactory function in patients with idiopathic Parkinson's disease]. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*. 50: 20-4.
- Harding AJ, Stimson E, Henderson JM, Halliday GM. 2002. Clinical correlates of selective pathology in the amygdala of patients with Parkinson's disease. *Brain*. 125: 2431-2445, Doi:10.1093/brain/awf251.
- Hari R, Portin K, Kettenmann B, Jousmäki V, Kopal G. 1997. Right-hemisphere preponderance of responses to painful CO2 stimulation of the human nasal mucosa. *Pain*. 72: 145-151, Doi: 10.1016/s0304-3959(97)00023-7.
- Hawkes CH, Shephard BC, Daniel SE. 1997. Olfactory dysfunction in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 62: 436-46, Doi: 10.1136/jnnp.62.5.436.
- Hawkes CH, Del Tredici K, Braak H. 2007. Parkinson's disease: a dual-hit hypothesis. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 33: 599-614, Doi:10.1111/j.1365-2990.2007.00874.x.
- Hawkes CH. 2008. The prodromal phase of sporadic Parkinson's disease: does it exist and if so how long is it? *Mov Disord*. 23: 1799-807, Doi:10.1002/mds.22242.
- Hedner M, Larsson M, Arnold N, Zucco GM, Hummel T. 2010. Cognitive factors in odor detection, odor discrimination, and odor identification tasks. *J Clin Exp Neuropsychol*. 32: 1062-7, Doi:10.1080/13803391003683070.
- Heinzel S, Berg D, Gasser T, Chen H, Yao C, Postuma RB, et al. 2019. Update of the MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease. *Mov Disord*. 34: 1464-1470, Doi: 10.1002/mds.27802.
- Heldmann M, Heeren J, Klein C, Rauch L, Hagenah J, Munte TF, et al. 2018. Neuroimaging abnormalities in individuals exhibiting Parkinson's disease risk markers. *Mov Disord*. Doi:10.1002/mds.27313.
- Henkin RI, Levy LM. 2002. Functional MRI of congenital hyposmia: brain activation to odors and imagination of odors and tastes. *J Comput Assist Tomogr*. 26: 39-61, Doi:10.1097/00004728-200201000-00008.

- Hernández NL, Escrivá AG, Benavent MS. 2015. Diagnostic value of combined assessment of olfaction and substantia nigra hyperechogenicity for Parkinson's disease. *Neurologia*. 30: 496-501, Doi: 10.1016/j.nrl.2014.03.010.
- Herting B, Schulze S, Reichmann H, Haehner A, Hummel T. 2008. A longitudinal study of olfactory function in patients with idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol*. 255: 367-70, Doi:10.1007/s00415-008-0665-5.
- Hirsch EC, Jenner P, Przedborski S. 2013. Pathogenesis of Parkinson's disease. *Mov Disord*. 28: 24-30, Doi:10.1002/mds.25032.
- Horwitz B. 2003. The elusive concept of brain connectivity. *NeuroImage*. 19: 466-470, Doi:https://doi.org/10.1016/S1053-8119(03)00112-5.
- Huart C, Eloy P, Collet S, Rombaux P. 2012. Chemosensory function assessed with psychophysical testing and event-related potentials in patients with atrophic rhinitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 269: 135-41, Doi:10.1007/s00405-011-1670-3.
- Huart C, Hummel T, Kaehling C, Konstantinidis I, Hox V, Mouraux A, et al. 2019a. Development of a new psychophysical method to assess intranasal trigeminal chemosensory function. *Rhinology*. 57: 375-384, Doi:10.4193/Rhin19.024.
- Huart C, Rombaux P, Hummel T. 2019b. Neural plasticity in developing and adult olfactory pathways - focus on the human olfactory bulb. *J Bioenerg Biomembr*. 51: 77-87, Doi:10.1007/s10863-018-9780-x.
- Hubbard PS, Esiri MM, Reading M, McShane R, Nagy Z. 2007. Alpha-synuclein pathology in the olfactory pathways of dementia patients. *J Anat*. 211: 117-124, Doi:10.1111/j.1469-7580.2007.00748.x.
- Hughes AJ, Daniel SE, Lees AJ. 2001. Improved accuracy of clinical diagnosis of Lewy body Parkinson's disease. *Neurology*. 57: 1497-1499, Doi: 10.1212/wnl.57.8.1497.
- Huisman E, Uylings HB, Hoogland PV. 2004. A 100% increase of dopaminergic cells in the olfactory bulb may explain hyposmia in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 19: 687-92, Doi:10.1002/mds.10713.
- Huisman E, Uylings HB, Hoogland PV. 2008. Gender-related changes in increase of dopaminergic neurons in the olfactory bulb of Parkinson's disease patients. *Mov Disord*. 23: 1407-13, Doi:10.1002/mds.22009.

- Hummel T, Kobal G, Mokrusch T. 1993. Chemosensory evoked potentials in patients with Parkinson's disease. In: New developments in event-related potentials. H.J. Heinze, T. Münte and G.R. Mangun eds., Boston: Birkhäuser Verlag. : 275-281.
- Hummel T, Barz S, Lotsch J, Roscher S, Kettenmann B, Kobal G. 1996a. Loss of olfactory function leads to a decrease of trigeminal sensitivity. *Chem Senses*. 21: 75-9, Doi: 10.1093/chemse/21.1.75.
- Hummel T, Schiessl C, Wendler J, Kobal G. 1996b. Peripheral electrophysiological responses decrease in response to repetitive painful stimulation of the human nasal mucosa. *Neurosci Lett*. 212: 37-40, Doi: 10.1016/0304-3940(96)12767-1.
- Hummel T, Sekinger B, Wolf SR, Pauli E, Kobal G. 1997a. 'Sniffin' sticks': olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chem Senses*. 22: 39-52, Doi:10.1093/chemse/22.1.39.
- Hummel T, Yousem D, Alsop D, Geckle R, Doty R. Functional MRI of olfactory and intranasal chemosensory trigeminal nerve activation. *Soc Neurosci Abstr*. 1997b. pp. 2076.
- Hummel T, Kobal G. 1999. Chemosensory event-related potentials to trigeminal stimuli change in relation to the interval between repetitive stimulation of the nasal mucosa. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 256: 16-21, Doi:10.1007/s004050050115.
- Hummel T, Livermore A. 2002. Intranasal chemosensory function of the trigeminal nerve and aspects of its relation to olfaction. *Int Arch Occup Environ Health*. 75: 305-13, Doi:10.1007/s00420-002-0315-7.
- Hummel T, Damm M, Vent J, Schmidt M, Theissen P, Larsson M, et al. 2003a. Depth of olfactory sulcus and olfactory function. *Brain Res*. 975: 85-9, Doi:10.1016/s0006-8993(03)02589-7.
- Hummel T, Futschik T, Frasnelli J, Huttenbrink KB. 2003b. Effects of olfactory function, age, and gender on trigeminally mediated sensations: a study based on the lateralization of chemosensory stimuli. *Toxicol Lett*. 140-141: 273-80, Doi: 10.1016/s0378-4274(03)00078-x.
- Hummel T, Doty RL, Yousem DM. 2005. Functional MRI of intranasal chemosensory trigeminal activation. *Chem Senses*. 30 Suppl 1: i205-6, Doi:10.1093/chemse/bjh186.
- Hummel T, Kobal G, Gudziol H, Mackay-Sim A. 2007. Normative data for the "Sniffin' Sticks" including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an

- upgrade based on a group of more than 3,000 subjects. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 264: 237-43, Doi:10.1007/s00405-006-0173-0.
- Hummel T, Iannilli E, Frasnelli J, Boyle J, Gerber J. 2009. Central processing of trigeminal activation in humans. *Ann N Y Acad Sci.* 1170: 190-5, Doi:10.1111/j.1749-6632.2009.03910.x.
- Hummel T, Fließbach K, Abele M, Okulla T, Reden J, Reichmann H, et al. 2010a. Olfactory fMRI in patients with Parkinson's disease. *Front Integr Neurosci.* 4: 125, Doi:10.3389/fnint.2010.00125.
- Hummel T, Witt M, Reichmann H, Welge-Luessen A, Haehner A. 2010b. Immunohistochemical, volumetric, and functional neuroimaging studies in patients with idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 289: 119-22, Doi:10.1016/j.jns.2009.08.026.
- Hummel T, Urbig A, Huart C, Duprez T, Rombaux P. 2015. Volume of olfactory bulb and depth of olfactory sulcus in 378 consecutive patients with olfactory loss. *J Neurol.* 262: 1046-51, Doi:10.1007/s00415-015-7691-x.
- Hummel T, Kaehling C, Grosse F. 2016. Automated assessment of intranasal trigeminal function. *Rhinology.* 54: 27-31, Doi:10.4193/Rhin15.002.
- Hummel T, Whitcroft K, Andrews P, Altundag A, Cinghi C, Costanzo R, et al. 2017. Position Paper on Olfactory Dysfunction. *Rhinology.* 54, Doi:10.4193/Rhin16.248.
- Hummel T, Frasnelli J. 2019. The intranasal trigeminal system. *Handb Clin Neurol.* 164: 119-134, Doi:10.1016/b978-0-444-63855-7.00008-3.
- Hwang EJ, Ryu DW, Lee JE, Park SH, Choi HS, Kim JS. 2019. Magnetic resonance imaging assessment of the substrate for hyposmia in patients with Parkinson's disease. *Clin Radiol.*, Doi:10.1016/j.crad.2019.02.003.
- Iannilli E, Gerber J, Frasnelli J, Hummel T. 2007. Intranasal trigeminal function in subjects with and without an intact sense of smell. *Brain Res.* 1139: 235-44, Doi:10.1016/j.brainres.2006.12.082.
- Iannilli E, Del Gratta C, Gerber JC, Romani GL, Hummel T. 2008. Trigeminal activation using chemical, electrical, and mechanical stimuli. *Pain.* 139: 376-88, Doi:10.1016/j.pain.2008.05.007.

- Iannilli E, Bitter T, Gudziol H, Burmeister HP, Mentzel HJ, Chopra APS, et al. 2011. Differences in anosmic and normosmic group in bimodal odorant perception: a functional- MRI study. *Rhinology*. 49: 458-463, Doi:10.4193/Rhino11.110.
- Iannilli E, Wiens S, Arshamian A, Seo HS. 2013. A spatiotemporal comparison between olfactory and trigeminal event-related potentials. *Neuroimage*. 77: 254-61, Doi:10.1016/j.neuroimage.2012.12.057.
- Iannilli E, Stephan L, Hummel T, Reichmann H, Haehner A. 2017. Olfactory impairment in Parkinson's disease is a consequence of central nervous system decline. *J Neurol*. 264: 1236-1246, Doi:10.1007/s00415-017-8521-0.
- Ibarretxe-Bilbao N, Junque C, Marti MJ, Valldeoriola F, Vendrell P, Bargallo N, et al. 2010. Olfactory impairment in Parkinson's disease and white matter abnormalities in central olfactory areas: A voxel-based diffusion tensor imaging study. *Mov Disord*. 25: 1888-94, Doi:10.1002/mds.23208.
- Iranzo A, Fernández-Arcos A, Tolosa E, Serradell M, Molinuevo JL, Valldeoriola F, et al. 2014. Neurodegenerative disorder risk in idiopathic REM sleep behavior disorder: study in 174 patients. *PLoS One*. 9: e89741, Doi:10.1371/journal.pone.0089741.
- Iravani B, Arshamian A, Ohla K, Wilson DA, Lundström JN. 2020. Non-invasive recording from the human olfactory bulb. *Nat Commun*. 11: 648, Doi:10.1038/s41467-020-14520-9.
- Jafek B, Hartman D, Eller P, Johnson E, Strahan R, Moran D. 1990. Postviral olfactory dysfunction. *Am J Rhinol Allergy*. 4: 91-100. Doi:10.2500/105065890782009497
- Jankovic J. 2005. Searching for a relationship between manganese and welding and Parkinson's disease. *Neurology*. 64: 2021-2028.
- Jellinger KA. 1991. Pathology of Parkinson's disease. *Mol Chem Neuropathol*. 14: 153-197. Doi : 10.1007/BF03159935
- Jellinger KA. 2009. Olfactory bulb [alpha]-synucleinopathy has high specificity and sensitivity for Lewy body disorders. *Acta neuropathologica*. 117: 215.
- Jennings D, Siderowf A, Stern M, Seibyl J, Eberly S, Oakes D, et al. 2017. Conversion to Parkinson Disease in the PARS Hyposmic and Dopamine Transporter-Deficit Prodromal Cohort. *JAMA Neurol*. 74: 933-940, Doi:10.1001/jamaneurol.2017.0985.

- Jobin B, Tremblay C, Giguère FL, Steffener J, Frasnelli J. 2020. Improving the Assessment of Trigeminal Sensitivity: a Pilot Study. *Chem Percept*. Doi:10.1007/s12078-020-09281-0.
- Johnson BA, Leon M. 2007. Chemotopic odorant coding in a mammalian olfactory system. *J Comp Neurol*. 503: 1-34, Doi:10.1002/cne.21396.
- Joshi N, Rolheiser TM, Fisk JD, McKelvey JR, Schoffer K, Phillips G, et al. 2017. Lateralized microstructural changes in early-stage Parkinson's disease in anterior olfactory structures, but not in substantia nigra. *J. Neurol*. 264: 1497-1505, Doi:10.1007/s00415-017-8555-3.
- Karapinar Senturk Z. 2020. Early diagnosis of Parkinson's disease using machine learning algorithms. *Med Hypotheses*. 138: 109603, Doi:10.1016/j.mehy.2020.109603.
- Karstensen HG, Vestergaard M, Baaré WFC, Skimminge A, Djurhuus B, Ellefsen B, et al. 2018. Congenital olfactory impairment is linked to cortical changes in prefrontal and limbic brain regions. *Brain Imaging Behav*. 12: 1569-1582, Doi:10.1007/s11682-017-9817-5.
- Katzenschlager R, Lees AJ. 2004. Olfaction and Parkinson's syndromes: its role in differential diagnosis. *Curr Opin Neurol*. 17: 417-423. Doi : 10.1097/01.wco.0000137531.76491.c2
- Kingsbury AE, Bandopadhyay R, Silveira-Moriyama L, Ayling H, Kallis C, Sterlacci W, et al. 2010. Brain stem pathology in Parkinson's disease: an evaluation of the Braak staging model. *Mov Disord*. 25: 2508-2515.
- Knudsen K, Flensburg Damholdt M, Mouridsen K, Borghammer P. 2015. Olfactory function in Parkinson's Disease - effects of training. *Acta Neurol Scand*. 132: 395-400, Doi:10.1111/ane.12406.
- Kobal G. 1985. Pain-related electrical potentials of the human nasal mucosa elicited by chemical stimulation. *Pain*. 22: 151-63. Doi: 10.1016/0304-3959(85)90175-7
- Kobal G, Hummel C. 1988. Cerebral chemosensory evoked potentials elicited by chemical stimulation of the human olfactory and respiratory nasal mucosa. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 71: 241-5. Doi: 10.1016/0168-5597(88)90023-8
- Kobal G, Van Toller S, Hummel T. 1989. Is there directional smelling? *Experientia*. 45: 130-2. Doi :<https://doi.org/10.1007/BF01954845>
- Kollndorfer K, Fischmeister FPS, Kowalczyk K, Hoche E, Mueller CA, Trattinig S, et al. 2015a. Olfactory training induces changes in regional functional connectivity in patients with

- long-term smell loss. *NeuroImage. Clinical.* 9: 401-410, Doi:10.1016/j.nicl.2015.09.004.
- Kollndorfer K, Jakab A, Mueller CA, Trattinig S, Schöpf V. 2015b. Effects of chronic peripheral olfactory loss on functional brain networks. *Neurosci.* 310: 589-599, Doi:10.1016/j.neuroscience.2015.09.045.
- Kondo H, Matsuda T, Hashiba M, Baba S. 1998. A study of the relationship between the T&T olfactometer and the University of Pennsylvania Smell Identification Test in a Japanese population. *Am J Rhinol.* 12: 353-358.
- Kratskin I, Hummel T, Hastings L, Doty R. 2000. 3-Methylindole alters both olfactory and trigeminal nasal mucosal potentials in rats. *Neuroreport.* 11: 2195-2197. Doi: 10.1097/00001756-200007140-00026
- Krismer F, Pinter B, Mueller C, Mahlknecht P, Nocker M, Reiter E, et al. 2017. Sniffing the diagnosis: Olfactory testing in neurodegenerative parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord.* 35: 36-41, Doi:10.1016/j.parkreldis.2016.11.010.
- Kurtenbach S, Wewering S, Hatt H, Neuhaus EM, Lubbert H. 2013. Olfaction in three genetic and two MPTP-induced Parkinson's disease mouse models. *PLoS One.* 8: e77509, Doi:10.1371/journal.pone.0077509.
- Lai B, Marion S, Teschke K, Tsui J. 2002. Occupational and environmental risk factors for Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 8: 297-309, Doi:10.1016/s1353-8020(01)00054-2
- Landis BN, Hummel T, Hugentobler M, Giger R, Lacroix J. 2003. Ratings of overall olfactory function. *Chem senses.* 28: 691-694, Doi: 10.1093/chemse/bjg061
- Landis BN, Konnerth CG, Hummel T. 2004. A study on the frequency of olfactory dysfunction. *Laryngoscope.* 114: 1764-9, Doi:10.1097/00005537-200410000-00017.
- Landis BN, Cao Van H, Guinand N, Horvath J, Haehner A, Savva E, et al. 2009. Retronasal olfactory function in Parkinson's disease. *Laryngoscope.* 119: 2280-3, Doi:10.1002/lary.20547.
- Lane AP, Turner J, May L, Reed R. 2010. A genetic model of chronic rhinosinusitis-associated olfactory inflammation reveals reversible functional impairment and dramatic neuroepithelial reorganization. *J Neurosci.* 30: 2324-2329, Doi: 10.1523/JNEUROSCI.4507-09.2010

- Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, Irwin I. 1983. Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science*. 219: 979-980, Doi: 10.1126/science.6823561
- Laska M, Distel H, Hudson R. 1997. Trigeminal perception of odorant quality in congenitally anosmic subjects. *Chem Senses*. 22: 447-56, Doi: 10.1093/chemse/22.4.447
- Leboucq N, Menjot de Champfleur N, Menjot de Champfleur S, Bonafé A. 2013. The olfactory system. *Diagn Interv Imaging*. 94: 985-991, Doi: <https://doi.org/10.1016/j.diii.2013.06.006>.
- Lee DH, Oh JS, Ham JH, Lee JJ, Lee I, Lee PH, et al. 2015. Is normosmic Parkinson disease a unique clinical phenotype? *Neurology*. 85: 1270-1275, Doi:10.1212/wnl.0000000000001999.
- Lee EY, Eslinger PJ, Du G, Kong L, Lewis MM, Huang X. 2014. Olfactory-related cortical atrophy is associated with olfactory dysfunction in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 29: 1205-8, Doi:10.1002/mds.25829.
- Lee YH, Bak Y, Park CH, Chung SJ, Yoo HS, Baik K, et al. 2020. Patterns of olfactory functional networks in Parkinson's disease dementia and Alzheimer's dementia. *Neurobiol Aging*. 89: 63-70, Doi:10.1016/j.neurobiolaging.2019.12.021.
- Lehrner J, Brücke T, Kryspin-Exner I, Asenbaum S, Podreka I. 1995. Impaired olfactory function in Parkinson's disease. *Lancet*. 345: 1054-1055, Doi: 10.1016/s0140-6736(95)90797-1
- Li J, Gu CZ, Su JB, Zhu LH, Zhou Y, Huang HY, et al. 2016. Changes in Olfactory Bulb Volume in Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 11: e0149286, Doi:10.1371/journal.pone.0149286.
- Linazasoro G. 2008. Olfaction testing in PD: risky conclusions. *Mov Disord*. 23: 1060, Doi:10.1002/mds.21572.
- Litvack JR, Fong K, Mace J, James KE, Smith TL. 2008. Predictors of olfactory dysfunction in patients with chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope*. 118: 2225-2230, Doi: 10.1097/MLG.0b013e318184e216.
- Liu J, Pinto JM, Yang L, Yao L, Miao X, Wei Y. 2018. Evaluation of idiopathic olfactory loss with chemosensory event-related potentials and magnetic resonance imaging. *Int Forum Allergy Rhinol*. 8: 1315-1322, Doi:10.1002/alr.22144.

- Liu JF, You H, Ni DF, Zhang QH, Yang DZ, Wang NY. 2008. [Posttraumatic anosmia: olfactory event related potentials and MRI evaluation]. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*. 43: 198-201.
- Livermore A, Hummel T, Kobal G. 1992. Chemosensory event-related potentials in the investigation of interactions between the olfactory and the somatosensory (trigeminal) systems. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 83: 201-210, Doi:[https://doi.org/10.1016/0013-4694\(92\)90145-8](https://doi.org/10.1016/0013-4694(92)90145-8).
- Lotsch J, Hummel T, Kraetsch H, Kobal G. 1997. The negative mucosal potential: separating central and peripheral effects of NSAIDs in man. *Eur J Clin Pharmacol.* 52: 359-64, Doi:[10.1007/s002280050301](https://doi.org/10.1007/s002280050301).
- Lotsch J, Reichmann H, Hummel T. 2008. Different odor tests contribute differently to the evaluation of olfactory loss. *Chem Senses*. 33: 17-21, Doi:[10.1093/chemse/bjm058](https://doi.org/10.1093/chemse/bjm058).
- Lötsch J, Haehner A, Hummel T. 2019. Machine-learning-derived rules set excludes risk of Parkinson's disease in patients with olfactory or gustatory symptoms with high accuracy. *J Neurol*. Doi:[10.1007/s00415-019-09604-6](https://doi.org/10.1007/s00415-019-09604-6).
- Lundstrom JN, Boesveldt S, Albrecht J. 2011. Central Processing of the Chemical Senses: an Overview. *ACS Chem Neurosci*. 2: 5-16, Doi:[10.1021/cn1000843](https://doi.org/10.1021/cn1000843).
- Ma Q, Huang B, Wang J, Seger C, Yang W, Li C, et al. 2017. Altered modular organization of intrinsic brain functional networks in patients with Parkinson's disease. *Brain Imaging Behav.* 11: 430-443, Doi:[10.1007/s11682-016-9524-7](https://doi.org/10.1007/s11682-016-9524-7).
- Mackay-Sim A, Johnston AN, Owen C, Burne TH. 2006. Olfactory ability in the healthy population: reassessing presbyosmia. *Chem Senses*. 31: 763-71, Doi:[10.1093/chemse/bjl019](https://doi.org/10.1093/chemse/bjl019).
- Mackenzie RA, Burke D, Skuse NF, Lethlean AK. 1975. Fibre function and perception during cutaneous nerve block. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 38: 865-873, Doi:[10.1136/jnnp.38.9.865](https://doi.org/10.1136/jnnp.38.9.865)
- Mahlknecht P, Pechlaner R, Boesveldt S, Volc D, Pinter B, Reiter E, et al. 2016. Optimizing odor identification testing as quick and accurate diagnostic tool for Parkinson's disease. *Mov Disord*. 31: 1408-13, Doi:[10.1002/mds.26637](https://doi.org/10.1002/mds.26637).
- Mahlknecht P, Gasperi A, Djamshidian A, Kiechl S, Stockner H, Willeit P, et al. 2018. Performance of the Movement Disorders Society criteria for prodromal Parkinson's

- disease: A population-based 10-year study. *Mov Disord.* 33: 405-413, Doi:10.1002/mds.27281.
- Mäkelä MJ, Puhakka T, Ruuskanen O, Leinonen M, Saikku P, Kimpimäki M, et al. 1998. Viruses and bacteria in the etiology of the common cold. *J Clin Microbiol.* 36: 539-542, Doi. 10.1128/JCM.36.2.539-542.1998
- Marini K, Mahlknecht P, Tutzer F, Stockner H, Gasperi A, Djamshidian A, et al. 2020. Application of a Simple Parkinson's Disease Risk Score in a Longitudinal Population-Based Cohort. *Mov Disord.* Doi:10.1002/mds.28127.
- Marras C, Chaudhuri KR. 2016. Nonmotor features of Parkinson's disease subtypes. *Mov Disord.* 31: 1095-1102, Doi: 10.1002/mds.26510
- Masala C, Solla P, Liscia A, Defazio G, Saba L, Cannas A, et al. 2018. Correlation among olfactory function, motors' symptoms, cognitive impairment, apathy, and fatigue in patients with Parkinson's disease. *J Neurol.* Doi:10.1007/s00415-018-8913-9.
- Mazal PP, Haehner A, Hummel T. 2016. Relation of the volume of the olfactory bulb to psychophysical measures of olfactory function. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 273: 1-7, Doi:10.1007/s00405-014-3325-7.
- McKinnon J, Evidente V, Driver-Dunckley E, Premkumar A, Hentz J, Shill H, et al. 2010. Olfaction in the elderly: a cross-sectional analysis comparing Parkinson's disease with controls and other disorders. *Int J Neurosci.* 120: 36-39, Doi: 10.3109/00207450903428954.
- McKinnon JH, Demaerschalk BM, Caviness JN, Wellik KE, Adler CH, Wingerchuk DM. 2007. Sniffing out Parkinson disease: can olfactory testing differentiate parkinsonian disorders? *Neurologist.* 13: 382-385, Doi. 10.1097/NRL.0b013e31815a351a
- Meusel T, Westermann B, Fuhr P, Hummel T, Welge-Lussen A. 2010. The course of olfactory deficits in patients with Parkinson's disease--a study based on psychophysical and electrophysiological measures. *Neurosci Lett.* 486: 166-70, Doi:10.1016/j.neulet.2010.09.044.
- Migneault-Bouchard C, Hsieh JW, Hugentobler M, Frasnelli J, Landis BN. 2019. Chemosensory decrease in different forms of olfactory dysfunction. *J Neurol.* Doi:10.1007/s00415-019-09564-x.

- Moessnang C, Frank G, Bogdahn U, Winkler J, Greenlee MW, Klucken J. 2011. Altered activation patterns within the olfactory network in Parkinson's disease. *Cereb Cortex*. 21: 1246-53, Doi:10.1093/cercor/bhq202.
- Moran DT, Rowley JC, 3rd, Jafek BW, Lovell MA. 1982. The fine structure of the olfactory mucosa in man. *J Neurocytol*. 11: 721-46, Doi:10.1007/bf01153516.
- Morrish P, Rakshi J, Bailey D, Sawle G, Brooks D. 1998. Measuring the rate of progression and estimating the preclinical period of Parkinson's disease with [18F] dopa PET. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 64: 314-319, Doi. 10.1136/jnnp.64.3.314
- Mouraux A, Diukova A, Lee MC, Wise RG, Iannetti GD. 2011. A multisensory investigation of the functional significance of the "pain matrix". *Neuroimage*. 54: 2237-2249, Doi.
- Mueller A, Abolmaali ND, Hakimi AR, Gloeckler T, Herting B, Reichmann H, et al. 2005a. Olfactory bulb volumes in patients with idiopathic Parkinson's disease a pilot study. *J Neural Transm (Vienna)*. 112: 1363-70, Doi:10.1007/s00702-005-0280-x.
- Mueller A, Rodewald A, Reden J, Gerber J, von Kummer R, Hummel T. 2005b. Reduced olfactory bulb volume in post-traumatic and post-infectious olfactory dysfunction. *Neuroreport*. 16: 475-8, Doi:10.1097/00001756-200504040-00011.
- Müller A, Müngersdorf M, Reichmann H, Strehle G, Hummel T. 2002. Olfactory function in Parkinsonian syndromes. *J Clin Neurosci*. 9: 521-524, Doi:https://doi.org/10.1054/jocn.2001.1071.
- Mullol J, Alobid I, Mariño-Sánchez F, Quintó L, de Haro J, Bernal-Sprekelsen M, et al. 2012. Furthering the understanding of olfaction, prevalence of loss of smell and risk factors: a population-based survey (OLFACAT study). *BMJ open*. 2, Doi: 10.1136/bmjopen-2012-001256
- Murphy C. 1983. Age-related effects on the threshold, psychophysical function, and pleasantness of menthol. *J Gerontol*. 38: 217-222, Doi: 10.1093/geronj/38.2.217
- Murphy C, Schubert CR, Cruickshanks KJ, Klein BE, Klein R, Nondahl DM. 2002. Prevalence of olfactory impairment in older adults. *JAMA*. 288: 2307-12, Doi: 10.1001/jama.288.18.2307
- Naka A, Wolf A, Renner B, Mueller CA. 2014. A novel device for the clinical assessment of intranasal trigeminal sensitivity. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 123: 428-433, Doi: 10.1177/0003489414527222

- Nakano I, Hirano A. 1984. Parkinson's disease: neuron loss in the nucleus basalis without concomitant Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 15: 415-418, Doi: 10.1002/ana.410150503
- Nalls MA, McLean CY, Rick J, Eberly S, Hutten SJ, Gwinn K, et al. 2015. Diagnosis of Parkinson's disease on the basis of clinical and genetic classification: a population-based modelling study. *Lancet Neurol.* 14: 1002-9, Doi:10.1016/S1474-4422(15)00178-7.
- Nalls MA, Blauwendraat C, Vallergera CL, Heilbron K, Bandres-Ciga S, Chang D, et al. 2019. Identification of novel risk loci, causal insights, and heritable risk for Parkinson's disease: a meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet Neurol.* 18: 1091-1102, Doi:10.1016/S1474-4422(19)30320-5.
- Nielsen T, Jensen MB, Stenager E, Andersen AD. 2018. The use of olfactory testing when diagnosing Parkinson's disease - a systematic review. *Dan Med J.* 65.
- Nieuwenhuys R. 2012. The insular cortex: a review. *Prog Brain Res.* 195: 123-163, Doi:10.1016/B978-0-444-53860-4.00007-6.
- Noyce AJ, Bestwick JP, Silveira-Moriyama L, Hawkes CH, Giovannoni G, Lees AJ, et al. 2012. Meta-analysis of early nonmotor features and risk factors for Parkinson disease. *Ann Neurol.* 72: 893-901, Doi. 10.1002/ana.23687.
- Noyce AJ, R'Bibo L, Peress L, Bestwick JP, Adams-Carr KL, Mencacci NE, et al. 2017. PREDICT-PD: An online approach to prospectively identify risk indicators of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 32: 219-226, Doi:10.1002/mds.26898.
- Obeso JA, Stamelou M, Goetz CG, Poewe W, Lang AE, Weintraub D, et al. 2017. Past, present, and future of Parkinson's disease: A special essay on the 200th Anniversary of the Shaking Palsy. *Mov Disord.* 32: 1264-1310, Doi:10.1002/mds.27115.
- Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. 1990. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 87: 9868, Doi:10.1073/pnas.87.24.9868.
- Oleszkiewicz A, Meusel T, Gupfert M, Westermann B, Hummel T, Welge-Lussen A. 2017. Olfactory deficits decrease the time resolution for trigeminal lateralization. *Int J Psychophysiol.* 121: 18-21, Doi:10.1016/j.ijpsycho.2017.09.004.

- Oleszkiewicz A, Schriever VA, Croy I, Hähner A, Hummel T. 2019. Updated Sniffin' Sticks normative data based on an extended sample of 9139 subjects. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 276: 719-728, Doi:10.1007/s00405-018-5248-1.
- Ottaviano G, Cantone E, D'Errico A, Salvalaggio A, Citton V, Scarpa B, et al. 2015. Sniffin' Sticks and olfactory system imaging in patients with Kallmann syndrome. *Int Forum Allergy Rhinol.* 5: 855-61, Doi:10.1002/alr.21550.
- Paschen L, Schmidt N, Wolff S, Cnyrim C, van Eimeren T, Zeuner KE, et al. 2015. The olfactory bulb volume in patients with idiopathic Parkinson's disease. *Eur J Neurol.* 22: 1068-73, Doi:10.1111/ene.12709.
- Pause BM, Sojka B, Krauel K, Ferstl R. 1996. The nature of the late positive complex within the olfactory event-related potential (OERP). *Psychophysiology.* 33: 376-384, Doi: 0.1111/j.1469-8986.1996.tb01062.x.
- Pause BM, Krauel K. 2000. Chemosensory event-related potentials (CSERP) as a key to the psychology of odors. *Int J Psychophysiol.* 36: 105-22, Doi: 10.1016/s0167-8760(99)00105-1.
- Pearce RK, Hawkes CH, Daniel SE. 1995. The anterior olfactory nucleus in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 10: 283-7, Doi:10.1002/mds.870100309.
- Pellegrino R, Han P, Reither N, Hummel T. 2019. Effectiveness of olfactory training on different severities of posttraumatic loss of smell. *Laryngoscope.* 129: 1737-1743, Doi:10.1002/lary.27832.
- Petrovitch H, Ross GW, Abbott RD, Sanderson WT, Sharp DS, Tanner CM, et al. 2002. Plantation work and risk of Parkinson disease in a population-based longitudinal study. *Arch Neurol.* 59: 1787-1792, Doi: 10.1001/archneur.59.11.1787
- Pievani M, Filippini N, van den Heuvel MP, Cappa SF, Frisoni GB. 2014. Brain connectivity in neurodegenerative diseases--from phenotype to proteinopathy. *Nat Rev Neurol.* 10: 620-33, Doi:10.1038/nrneurol.2014.178.
- Pilotto A, Heinzel S, Suenkel U, Lerche S, Brockmann K, Roeben B, et al. 2017. Application of the movement disorder society prodromal Parkinson's disease research criteria in 2 independent prospective cohorts. *Mov Disord.* 32: 1025-1034, Doi:10.1002/mds.27035.

- Plailly J, Howard JD, Gitelman DR, Gottfried JA. 2008. Attention to odor modulates thalamocortical connectivity in the human brain. *J Neurosci.* 28: 5257-5267, Doi: 10.1523/JNEUROSCI.5607-07.2008
- Ponsen MM, Stoffers D, Booij J, van Eck-Smit BL, Wolters E, Berendse HW. 2004. Idiopathic hyposmia as a preclinical sign of Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 56: 173-81, Doi:10.1002/ana.20160.
- Ponsen MM, Stoffers D, Twisk JW, Wolters E, Berendse HW. 2009. Hyposmia and executive dysfunction as predictors of future Parkinson's disease: a prospective study. *Mov Disord.* 24: 1060-5, Doi:10.1002/mds.22534.
- Postuma R, Gagnon J, Vendette M, Fantini M, Massicotte-Marquez J, Montplaisir J. 2009. Quantifying the risk of neurodegenerative disease in idiopathic REM sleep behavior disorder. *Neurology.* 72: 1296-1300, Doi: 10.1212/01.wnl.0000340980.19702.6e
- Postuma R, Gagnon J-F. 2010. Cognition and olfaction in Parkinson's disease. *Brain.* 133: e160-e160, Doi:10.1093/brain/awq225.
- Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, et al. 2015a. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord.* 30: 1591-601, Doi:10.1002/mds.26424.
- Postuma RB, Gagnon JF, Bertrand JA, Genier Marchand D, Montplaisir JY. 2015b. Parkinson risk in idiopathic REM sleep behavior disorder: preparing for neuroprotective trials. *Neurology.* 84: 1104-13, Doi:10.1212/WNL.0000000000001364.
- Postuma RB. 2017. Nonmotor Aspects of Parkinson's Disease-How Do They Help Diagnosis? *Int Rev Neurobiol.* 133: 519-539, Doi:10.1016/bs.irn.2017.04.002.
- Postuma RB, Poewe W, Litvan I, Lewis S, Lang AE, Halliday G, et al. 2018. Validation of the MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord.* 33: 1601-1608, Doi:10.1002/mds.27362.
- Postuma RB, Berg D. 2019. Prodromal Parkinson's Disease: The Decade Past, the Decade to Come. *Mov Disord.* 34: 665-675, Doi:10.1002/mds.27670.
- Postuma RB, Iranzo A, Hu M, Hogl B, Boeve BF, Manni R, et al. 2019. Risk and predictors of dementia and parkinsonism in idiopathic REM sleep behaviour disorder: a multicentre study. *Brain.* 142: 744-759, Doi:10.1093/brain/awz030.

- Power JD, Cohen AL, Nelson SM, Wig GS, Barnes KA, Church JA, et al. 2011. Functional network organization of the human brain. *Neuron*. 72: 665-678, Doi: 10.1016/j.neuron.2011.09.006
- Pringsheim T, Jette N, Frolkis A, Steeves TD. 2014. The prevalence of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord*. 29: 1583-90, Doi:10.1002/mds.25945.
- Ramaker C, Marinus J, Stiggelbout AM, van Hilten BJ. 2002. Systematic evaluation of rating scales for impairment and disability in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 17: 867-876, Doi:10.1002/mds.10248.
- Reden J, Mueller A, Mueller C, Konstantinidis I, Frasnelli J, Landis BN, et al. 2006. Recovery of olfactory function following closed head injury or infections of the upper respiratory tract. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 132: 265-269, Doi: 10.1001/archotol.132.3.265
- Reichert JL, Postma EM, Smeets PAM, Boek WM, de Graaf K, Schopf V, et al. 2018. Severity of olfactory deficits is reflected in functional brain networks-An fMRI study. *Hum Brain Mapp*. Doi:10.1002/hbm.24067.
- Reichert JL, Schopf V. 2018. Olfactory Loss and Regain: Lessons for Neuroplasticity. *Neuroscientist*. 24: 22-35, Doi:10.1177/1073858417703910.
- Ren Y, Yang L, Guo Y, Xutao M, Li K, Wei Y. 2012. Intranasal trigeminal chemosensitivity in patients with postviral and post-traumatic olfactory dysfunction. *Acta Otolaryngol*. 132: 974-80, Doi:10.3109/00016489.2012.663933.
- Rizzo G, Copetti M, Arcuti S, Martino D, Fontana A, Logroscino G. 2016. Accuracy of clinical diagnosis of Parkinson disease: A systematic review and meta-analysis. *Neurology*. 86: 566-76, Doi:10.1212/wnl.00000000000002350.
- Rogers BP, Morgan VL, Newton AT, Gore JC. 2007. Assessing functional connectivity in the human brain by fMRI. *Mag Reson Imaging*. 25: 1347-1357, Doi:https://doi.org/10.1016/j.mri.2007.03.007.
- Rogers JD, Brogan D, Mirra SS. 1985. The nucleus basalis of Meynert in neurological disease: a quantitative morphological study. *Ann Neurol*. 17: 163-170, Doi: 10.1002/ana.410170210

- Rolheiser TM, Fulton HG, Good KP, Fisk JD, McKelvey JR, Scherfler C, et al. 2011. Diffusion tensor imaging and olfactory identification testing in early-stage Parkinson's disease. *J Neurol.* 258: 1254-60, Doi:10.1007/s00415-011-5915-2.
- Rolls ET. 2004. The functions of the orbitofrontal cortex. *Brain Cogn.* 55: 11-29, Doi:10.1016/s0278-2626(03)00277-x.
- Rombaux P, Mouraux A, Bertrand B, Guerit JM, Hummel T. 2006a. Assessment of olfactory and trigeminal function using chemosensory event-related potentials. *Neurophysiol Clin.* 36: 53-62, Doi:10.1016/j.neucli.2006.03.005.
- Rombaux P, Mouraux A, Bertrand B, Nicolas G, Duprez T, Hummel T. 2006b. Retronasal and orthonasal olfactory function in relation to olfactory bulb volume in patients with posttraumatic loss of smell. *Laryngoscope.* 116: 901-5, Doi:10.1097/01.mlg.0000217533.60311.e7.
- Rombaux P, Mouraux A, Keller T, Hummel T. 2008a. Trigeminal event-related potentials in patients with olfactory dysfunction. *Rhinology.* 46: 170-4.
- Rombaux P, Potier H, Bertrand B, Duprez T, Hummel T. 2008b. Olfactory bulb volume in patients with sinonasal disease. *Am J Rhinol.* 22: 598-601, Doi:10.2500/ajr.2008.22.3237.
- Rombaux P, Grandin C, Duprez T. 2009. How to measure olfactory bulb volume and olfactory sulcus depth? *B-ENT.* 5 Suppl 13: 53-60,
- Rombaux P, Huart C, Deggouj N, Duprez T, Hummel T. 2012. Prognostic value of olfactory bulb volume measurement for recovery in postinfectious and posttraumatic olfactory loss. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 147: 1136-41, Doi:10.1177/0194599812459704.
- Rombaux P, Huart C, Levie P, Cingi C, Hummel T. 2016. Olfaction in chronic rhinosinusitis. *Curr Allergy Asthma Rep.* 16: 41, Doi: 10.1007/s11882-016-0617-6
- Roos DS, Twisk JWR, Raijmakers P, Doty RL, Berendse HW. 2019. Hyposmia as a marker of (non-)motor disease severity in Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna).* Doi:10.1007/s00702-019-02074-0.
- Ross GW, Abbott RD, Petrovitch H, Tanner CM, Davis DG, Nelson J, et al. 2006. Association of olfactory dysfunction with incidental Lewy bodies. *Mov Disord.* 21: 2062-7, Doi:10.1002/mds.21076.

- Ross GW, Petrovitch H, Abbott RD, Tanner CM, Popper J, Masaki K, et al. 2008. Association of olfactory dysfunction with risk for future Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 63: 167-73, Doi:10.1002/ana.21291.
- Ross GW, Abbott RD, Petrovitch H, Tanner CM, White LR. 2012. Pre-motor features of Parkinson's disease: the Honolulu-Asia Aging Study experience. *Parkinsonism Relat Disord.* 18 Suppl 1: S199-202, Doi:10.1016/S1353-8020(11)70062-1.
- Rouquier S, Blancher A, Giorgi D. 2000. The olfactory receptor gene repertoire in primates and mouse: evidence for reduction of the functional fraction in primates. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 97: 2870-4, Doi:10.1073/pnas.040580197.
- Ryden LE, Lewis SJG. 2019. Parkinson's Disease in the Era of Personalised Medicine: One Size Does Not Fit All. *Drugs Aging.* 36: 103-113, Doi:10.1007/s40266-018-0624-5.
- Sanjari Moghaddam H, Dolatshahi M, Salardini E, Aarabi MH. 2019. Association of olfaction dysfunction with brain microstructure in prodromal Parkinson disease. *Neurol Sci.* 40: 283-291, Doi:10.1007/s10072-018-3629-2.
- Savic I, Gulyas B, Larsson M, Roland P. 2000. Olfactory functions are mediated by parallel and hierarchical processing. *Neuron.* 26: 735-45, Doi: 10.1016/s0896-6273(00)81209-x
- Savica R, Cannon-Albright LA, Pulst S. 2016. Familial aggregation of Parkinson disease in Utah: a population-based analysis using death certificates. *Neurology Genetics.* 2, Doi: 10.1212/NXG.0000000000000065.
- Savitt D, Jankovic J. 2019. Targeting α -Synuclein in Parkinson's Disease: Progress Towards the Development of Disease-Modifying Therapeutics. *Drugs.* 79: 797-810, Doi:10.1007/s40265-019-01104-1.
- Schaefer ML, Bottger B, Silver WL, Finger TE. 2002. Trigeminal collaterals in the nasal epithelium and olfactory bulb: a potential route for direct modulation of olfactory information by trigeminal stimuli. *J Comp Neurol.* 444: 221-6, Doi:10.1002/cne.10143.
- Schapira AHV, Chaudhuri KR, Jenner P. 2017. Non-motor features of Parkinson disease. *Nat Rev Neurosci.* 18: 435-450, Doi:10.1038/nrn.2017.62.
- Scheibe M, Schmidt A, Hummel T. 2012. Investigation of the topographical differences in somatosensory sensitivity of the human nasal mucosa. *Rhinology.* 50: 290-3, Doi:10.4193/Rhino11.224.

- Scherfler C, Schocke MF, Seppi K, Esterhammer R, Brenneis C, Jaschke W, et al. 2006. Voxel-wise analysis of diffusion weighted imaging reveals disruption of the olfactory tract in Parkinson's disease. *Brain*. 129: 538-42, Doi:10.1093/brain/awh674.
- Schneider SA, Boettner M, Alexoudi A, Zorenkov D, Deuschl G, Wedel T. 2016. Can we use peripheral tissue biopsies to diagnose Parkinson's disease? A review of the literature. *Eur J Neurol*. 23: 247-61, Doi:10.1111/ene.12753.
- Schrag A, Zhelev SS, Hotham S, Merritt RD, Khan K, Graham L. 2019. Heterogeneity in progression of prodromal features in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. Doi:10.1016/j.parkreldis.2019.05.013.
- Segura B, Baggio HC, Solana E, Palacios EM, Vendrell P, Bargallo N, et al. 2013. Neuroanatomical correlates of olfactory loss in normal aged subjects. *Behav Brain Res*. 246: 148-53, Doi:10.1016/j.bbr.2013.02.025.
- Seiden AM. 2004. Postviral olfactory loss. *Otolaryngol Clin North Am*. 37: 1159-66, Doi:10.1016/j.otc.2004.06.007.
- Sengoku R, Saito Y, Ikemura M, Hatsuta H, Sakiyama Y, Kanemaru K, et al. 2008. Incidence and Extent of Lewy Body-Related α -Synucleinopathy in Aging Human Olfactory Bulb. *J Neuropathol Exp Neurol*. 67: 1072-1083, Doi:10.1097/NEN.0b013e31818b4126.
- Seubert J, Freiherr J, Frasnelli J, Hummel T, Lundstrom JN. 2013. Orbitofrontal cortex and olfactory bulb volume predict distinct aspects of olfactory performance in healthy subjects. *Cereb Cortex*. 23: 2448-56, Doi:10.1093/cercor/bhs230.
- Shah M, Muhammed N, Findley LJ, Hawkes CH. 2008. Olfactory tests in the diagnosis of essential tremor. *Parkinsonism Relat Disord*. 14: 563-8, Doi:10.1016/j.parkreldis.2007.12.006.
- Shah M, Deeb J, Fernando M, Noyce A, Visentin E, Findley LJ, et al. 2009. Abnormality of taste and smell in Parkinson's disease. *Parkinsonism relat disord*. 15: 232-237, Doi: 10.1016/j.parkreldis.2008.05.008
- Shimada H, Hirano S, Shinotoh H, Aotsuka A, Sato K, Tanaka N, et al. 2009. Mapping of brain acetylcholinesterase alterations in Lewy body disease by PET. *Neurology*. 73: 273-8, Doi:10.1212/WNL.0b013e3181ab2b58.
- Shin H-C, Roth HR, Gao M, Lu L, Xu Z, Nogues I, et al. 2016. Deep convolutional neural networks for computer-aided detection: CNN architectures, dataset characteristics and

- transfer learning. *IEEE Trans Med Imaging.* 35: 1285-1298, Doi: 10.1109/TMI.2016.2528162
- Shinotoh H, Namba H, Yamaguchi M, Fukushi K, Nagatsuka S-I, Iyo M, et al. 1999. Positron emission tomographic measurement of acetylcholinesterase activity reveals differential loss of ascending cholinergic systems in Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy. *Ann Neurol.* 46: 62-69.
- Sicard G, Holley A. 1984. Receptor cell responses to odorants: similarities and differences among odorants. *Brain Res.* 292: 283-96, Doi:10.1016/0006-8993(84)90764-9.
- Siderowf A, Newberg A, Chou K, Lloyd M, Colcher A, Hurtig H, et al. 2005. [^{99m}Tc] TRODAT-1 SPECT imaging correlates with odor identification in early Parkinson disease. *Neurology.* 64: 1716-1720, Doi: 10.1212/01.WNL.0000161874.52302.5D
- Silveira-Moriyama L, Holton JL, Kingsbury A, Ayling H, Petrie A, Sterlacci W, et al. 2009. Regional differences in the severity of Lewy body pathology across the olfactory cortex. *Neurosci Lett.* 453: 77-80, Doi:10.1016/j.neulet.2009.02.006.
- Silveira-Moriyama L, Hughes G, Church A, Ayling H, Williams DR, Petrie A, et al. 2010. Hyposmia in progressive supranuclear palsy. *Mov Disord.* 25: 570-577, Doi: 10.1002/mds.22688
- Simuni T, Caspell-Garcia C, Coffey CS, Weintraub D, Mollenhauer B, Lasch S, et al. 2018. Baseline prevalence and longitudinal evolution of non-motor symptoms in early Parkinson's disease: the PPMI cohort. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 89: 78-88, Doi:10.1136/jnnp-2017-316213.
- Sivaranjini S, Sujatha C. 2019. Deep learning based diagnosis of Parkinson's disease using convolutional neural network. *Multimedia Tools and Applications.* : 1-13, Doi: <https://doi.org/10.1007/s11042-019-7469-8>
- Sobhani S, Rahmani F, Aarabi MH, Sadr AV. 2019. Exploring white matter microstructure and olfaction dysfunction in early parkinson disease: diffusion MRI reveals new insight. *Brain Imaging Behav.* 13: 210-219, Doi:10.1007/s11682-017-9781-0.
- Sommer U, Hummel T, Cormann K, Mueller A, Frasnelli J, Kropp J, et al. 2004. Detection of presymptomatic Parkinson's disease: combining smell tests, transcranial sonography, and SPECT. *Mov Disord* 19: 1196-1202, Doi: 10.1002/mds.20141

- Sorokowska A, Schriever VA, Gudziol V, Hummel C, Hähner A, Iannilli E, et al. 2015. Changes of olfactory abilities in relation to age: odor identification in more than 1400 people aged 4 to 80 years. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 272: 1937-1944, Doi. 10.1007/s00405-014-3263-4
- Sorokowska A, Drechsler E, Karwowski M, Hummel T. 2017. Effects of olfactory training: a meta-analysis. *Rhinology.* 55: 17-26, Doi:10.4193/Rhin16.195.
- Spillantini MG, Goedert M. 2013. Tau pathology and neurodegeneration. *Lancet Neurology.* 12: 609-622, Doi: 10.1016/S1474-4422(13)70090-5
- Sporns O, Zwi JD. 2004. The small world of the cerebral cortex. *Neuroinformatics.* 2: 145-62, Doi:10.1385/ni:2:2:145.
- Sporns O. 2011. The human connectome: a complex network. *Ann N Y Acad Sci.* 1224: 109-125, Doi:10.1111/j.1749-6632.2010.05888.x.
- Sporns O, Betzel RF. 2016. Modular Brain Networks. *Annu Rev Psychol.* 67: 613-40, Doi:10.1146/annurev-psych-122414-033634.
- Stephenson R, Houghton D, Sundararajan S, Doty RL, Stern M, Xie SX, et al. 2010. Odor identification deficits are associated with increased risk of neuropsychiatric complications in patients with Parkinson's disease. *Mov Disord.* 25: 2099-104, Doi:10.1002/mds.23234.
- Stern MB, Doty R, Dotti M, Corcoran P, Crawford D, McKeown D, et al. 1994. Olfactory function in Parkinson's disease subtypes. *Neurology.* 44: 266-266, Doi: 10.1212/wnl.44.2.266
- Stocchi F, Olanow CW. 2013. Obstacles to the development of a neuroprotective therapy for Parkinson's disease. *Mov Disord.* 28: 3-7, Doi:10.1002/mds.25337.
- Su M, Wang S, Fang W, Zhu Y, Li R, Sheng K, et al. 2015. Alterations in the limbic/paralimbic cortices of Parkinson's disease patients with hyposmia under resting-state functional MRI by regional homogeneity and functional connectivity analysis. *Parkinsonism Relat Disord.* 21: 698-703, Doi:10.1016/j.parkreldis.2015.04.006.
- Sung S, Vijiaratnam N, Chan DWC, Farrell M, Evans AH. 2018. Pain sensitivity in Parkinson's disease: Systematic review and meta-analysis. *Parkinsonism Relat Disord.* 48: 17-27, Doi:10.1016/j.parkreldis.2017.12.031.

- Sunwoo MK, Cha J, Ham JH, Song SK, Hong JY, Lee JM, et al. 2015. Olfactory performance and resting state functional connectivity in non-demented drug naive patients with Parkinson's disease. *Hum Brain Mapp.* 36: 1716-27, Doi:10.1002/hbm.22732.
- Tanik N, Serin HI, Celikbilek A, Inan LE, Gundogdu F. 2016. Associations of olfactory bulb and depth of olfactory sulcus with basal ganglia and hippocampus in patients with Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 620: 111-4, Doi:10.1016/j.neulet.2016.03.050.
- Tarozzi A. 2020. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From Preclinical Studies to Clinical Applications. *J Clin Med.* 9, Doi:10.3390/jcm9041223.
- Temmel AF, Quint C, Schickinger-Fischer B, Klimek L, Stoller E, Hummel T. 2002. Characteristics of olfactory disorders in relation to major causes of olfactory loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 128: 635-41, Doi: 10.1001/archotol.128.6.635
- Thurauf N, Hummel T, Kettenmann B, Kobal G. 1993. Nociceptive and reflexive responses recorded from the human nasal mucosa. *Brain Res.* 629: 293-9, Doi: 10.1016/0006-8993(93)91333-n
- Thurauf N, Gunther M, Pauli E, Kobal G. 2002. Sensitivity of the negative mucosal potential to the trigeminal target stimulus CO₂. *Brain Res.* 942: 79-86, Doi: 10.1016/s0006-8993(02)02697-5
- Thürauf N, Friedel I, Hummel C, Kobal G. 1991. The mucosal potential elicited by noxious chemical stimuli with CO₂ in rats: is it a peripheral nociceptive event? *Neurosci Lett.* 128: 297-300, Doi: 10.1016/0304-3940(91)90283-y
- Tissingh G, Berendse H, Bergmans P, DeWaard R, Drukarch B, Stoof J, et al. 2001. Loss of olfaction in de novo and treated Parkinson's disease: possible implications for early diagnosis. *Mov Disord.* 16: 41-46, Doi:10.1002/1531-8257(200101)16:1<41::aid-mds1017>3.0.co;2-m
- Tremblay C, Durand Martel P, Frasnelli J. 2017. Trigeminal system in Parkinson's disease: A potential avenue to detect Parkinson-specific olfactory dysfunction. *Parkinsonism Relat Disord.* 44: 85-90, Doi:10.1016/j.parkreldis.2017.09.010.
- Tremblay C, Durand Martel P, Frasnelli J. 2018. Chemosensory perception is specifically impaired in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 57: 68-71, Doi:10.1016/j.parkreldis.2018.08.002.

- Tremblay C, Frasnelli J. 2018. Olfactory and Trigeminal Systems Interact in the Periphery. *Chem Senses*. 43: 611-616, Doi:10.1093/chemse/bjy049.
- Tremblay C, Emrich R, Cavazzana A, Klingelhofer L, Brandt MD, Hummel T, et al. 2019. Specific intranasal and central trigeminal electrophysiological responses in Parkinson's disease. *J Neurol*. 266: 2942-2951, Doi:10.1007/s00415-019-09517-4.
- Tremblay C, Iravani B, Aubry Lafontaine E, Steffener J, Fischmeister FPS, Lundstrom JN, et al. 2020a. Parkinson's Disease Affects Functional Connectivity within the Olfactory-Trigeminal Network. *J Parkinsons Dis*. Preprint: 1-14, Doi:10.3233/JPD-202062.
- Tremblay C, Mei J, Frasnelli J. 2020b. Olfactory bulb surroundings can help to distinguish Parkinson's disease from non-parkinsonian olfactory dysfunction. *NeuroImage: Clinical*. : 102457, Doi:10.1016/j.nicl.2020.102457.
- Tunc S, Graf J, Tadic V, Brüggemann N, Schmidt A, Al-Khaled M, et al. 2015. A population-based study on combined markers for early Parkinson's disease. *Mov Disord*. 30: 531-7, Doi:10.1002/mds.26100.
- Tysnes O-B, Storstein A. 2017. Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 124: 901-905, Doi. 10.1007/s00702-017-1686-y
- Ubeda-Banon I, Saiz-Sanchez D, de la Rosa-Prieto C, Mohedano-Moriano A, Fradejas N, Calvo S, et al. 2010. Staging of alpha-synuclein in the olfactory bulb in a model of Parkinson's disease: cell types involved. *Mov Disord*. 25: 1701-7, Doi:10.1002/mds.23197.
- Ubeda-Banon I, Saiz-Sanchez D, de la Rosa-Prieto C, Martinez-Marcos A. 2012. alpha-Synuclein in the olfactory system of a mouse model of Parkinson's disease: correlation with olfactory projections. *Brain Struct Funct*. 217: 447-58, Doi:10.1007/s00429-011-0347-4.
- Uchihara T, Giasson BI. 2016. Propagation of alpha-synuclein pathology: hypotheses, discoveries, and yet unresolved questions from experimental and human brain studies. *Acta Neuropathol*. 131: 49-73, Doi:10.1007/s00401-015-1485-1.
- Vargas JY, Grudina C, Zurzolo C. 2019. The prion-like spreading of alpha-synuclein: From in vitro to in vivo models of Parkinson's disease. *Ageing Res Rev*. 50: 89-101, Doi:10.1016/j.arr.2019.01.012.

- Versace V, Langthaler PB, Sebastianelli L, Holler Y, Brigo F, Orioli A, et al. 2017. Impaired cholinergic transmission in patients with Parkinson's disease and olfactory dysfunction. *J Neurol Sci.* 377: 55-61, Doi:10.1016/j.jns.2017.03.049.
- Visanji NP, Brooks PL, Hazrati L-N, Lang AE. 2013. The prion hypothesis in Parkinson's disease: Braak to the future. *Acta Neuropathol Commun.* 1: 1-12, Doi: 10.1186/2051-5960-1-2
- Wang J, Eslinger PJ, Smith MB, Yang QX. 2005. Functional magnetic resonance imaging study of human olfaction and normal aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 60: 510-514, Doi: 10.1093/gerona/60.4.510.
- Wang J, You H, Liu JF, Ni DF, Zhang ZX, Guan J. 2011. Association of olfactory bulb volume and olfactory sulcus depth with olfactory function in patients with Parkinson disease. *AJNR Am J Neuroradiol.* 32: 677-81, Doi:10.3174/ajnr.A2350.
- Wattendorf E, Welge-Lüssen A, Fiedler K, Bilecen D, Wolfensberger M, Fuhr P, et al. 2009. Olfactory impairment predicts brain atrophy in Parkinson's disease. *J Neurosci.* 29: 15410-3, Doi:10.1523/jneurosci.1909-09.2009.
- Wehling E, Naess H, Wollschlaeger D, Hofstad H, Bramerson A, Bende M, et al. 2015. Olfactory dysfunction in chronic stroke patients. *BMC neurology.* 15: 199, Doi: 10.1186/s12883-015-0463-5
- Welge-Lüssen A, Wattendorf E, Schwerdtfeger U, Fuhr P, Bilecen D, Hummel T, et al. 2009. Olfactory-induced brain activity in Parkinson's disease relates to the expression of event-related potentials: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroscience.* 162: 537-43, Doi:10.1016/j.neuroscience.2009.04.050.
- Welge-Lüssen A, Wolfensberger M, 2006. Olfactory disorders following upper respiratory tract infections. In: Taste and Smell. Vol. 63, Hummel T, Welge-Lüssen A eds. Karger Publishers, pp. 125-132.
- Welge-Lüssen A, Hilgenfeld A, Meusel T, Hummel T. 2012. Long-term follow-up of posttraumatic olfactory disorders. *Rhinology.* 50: 67-72, Doi: 10.4193/Rhino11.141
- Wen MC, Xu Z, Lu Z, Chan LL, Tan EK, Tan LCS. 2017. Microstructural network alterations of olfactory dysfunction in newly diagnosed Parkinson's disease. *Sci Rep.* 7: 12559, Doi:10.1038/s41598-017-12947-7.

- Wenning GK, Shephard B, Hawkes C, Petrukevitch A, Lees A, Quinn N. 1995. Olfactory function in atypical parkinsonian syndromes. *Acta Neurol Scand.* 91: 247-250, Doi:10.1111/j.1600-0404.1995.tb06998.x.
- Westermann B, Wattendorf E, Schwerdtfeger U, Husner A, Fuhr P, Gratzl O, et al. 2008. Functional imaging of the cerebral olfactory system in patients with Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 79: 19-24, Doi:10.1136/jnnp.2006.113860.
- Whitcroft K, Fischer J, Han P, Raue C, Bensafi M, Gudziol V, et al. 2018. Structural plasticity of the primary and secondary olfactory cortices: increased gray matter volume following surgical treatment for chronic rhinosinusitis. *Neuroscience.* 395: 22-34, Doi: 10.1016/j.neuroscience.2018.10.011
- Whitcroft KL, Cuevas M, Haehner A, Hummel T. 2017. Patterns of olfactory impairment reflect underlying disease etiology. *Laryngoscope.* 127: 291-295, Doi:10.1002/lary.26229.
- Wilson RS, Yu L, Schneider JA, Arnold SE, Buchman AS, Bennett DA. 2011. Lewy bodies and olfactory dysfunction in old age. *Chem Senses.* 36: 367-373, Doi: 10.1093/chemse/bjq139
- Witt M, Bormann K, Gudziol V, Pehlke K, Barth K, Minovi A, et al. 2009. Biopsies of olfactory epithelium in patients with Parkinson's disease. *Mov Disord.* 24: 906-14, Doi:10.1002/mds.22464.
- Wong SL, Gilmour HL, Ramage-Morin PL. 2014. La maladie de Parkinson: prévalence, diagnostic et conséquences, Vol., Statistique Canada,
- Wu X, Yu C, Fan F, Zhang K, Zhu C, Wu T, et al. 2011. Correlation between progressive changes in piriform cortex and olfactory performance in early Parkinson's disease. *Eur Neurol.* 66: 98-105, Doi:10.1159/000329371.
- Yamagishi M, Fujiwara M, Nakamura H. 1994. Olfactory mucosal findings and clinical course in patients with olfactory disorders following upper respiratory viral infection. *Rhinology.* 32: 113-8.
- Yao L, Pinto JM, Yi X, Li L, Peng P, Wei Y. 2014. Gray matter volume reduction of olfactory cortices in patients with idiopathic olfactory loss. *Chem Senses.* 39: 755-60, Doi:10.1093/chemse/bju047.

- Yao L, Yi X, Pinto JM, Yuan X, Guo Y, Liu Y, et al. 2018a. Olfactory cortex and Olfactory bulb volume alterations in patients with post-infectious Olfactory loss. *Brain Imaging Behav.* 12: 1355-1362, Doi:10.1007/s11682-017-9807-7.
- Yao LY, Guo YC, Zhan XJ, Sun ZF, Li Y, Wei YX. 2018b. [Preliminary study of DTI on cerebral white matter micro-structure of patients with idiopathic olfactory loss]. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi.* 32: 435-438, Doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2018.06.009.
- Yasaka K, Akai H, Kunimatsu A, Kiryu S, Abe O. 2018. Deep learning with convolutional neural network in radiology. *Jpn J Radiol.* 36: 257-272, Doi:10.1007/s11604-018-0726-3.
- Yoneyama N, Watanabe H, Kawabata K, Bagarinao E, Hara K, Tsuboi T, et al. 2018. Severe hyposmia and aberrant functional connectivity in cognitively normal Parkinson's disease. *PLoS One.* 13: e0190072, Doi:10.1371/journal.pone.0190072.
- Yousem DM, Geckle RJ, Bilker W, McKeown DA, Doty RL. 1996a. MR evaluation of patients with congenital hyposmia or anosmia. *AJR. AJR Am J Roentgenol.* 166: 439-443, Doi: 10.2214/ajr.166.2.8553963
- Yousem DM, Geckle RJ, Bilker WB, McKeown DA, Doty RL. 1996b. Posttraumatic olfactory dysfunction: MR and clinical evaluation. *AJNR Am J Neuroradiol.* 17: 1171-9.
- Yousem DM, Geckle RJ, Doty RL, Bilker WB. 1997. Reproducibility and reliability of volumetric measurements of olfactory eloquent structures. *Acad Radiol.* 4: 264-9, Doi:10.1016/s1076-6332(97)80027-x.
- Yousem DM, Geckle RJ, Bilker WB, Kroger H, Doty RL. 1999. Posttraumatic smell loss: relationship of psychophysical tests and volumes of the olfactory bulbs and tracts and the temporal lobes. *Acad Radiol.* 6: 264-72, Doi:10.1016/s1076-6332(99)80449-8.
- Zald DH, Pardo JV. 2000. Functional neuroimaging of the olfactory system in humans. *Int J Psychophysiol.* 36: 165-181, Doi: 10.1016/s0167-8760(99)00110-5.
- Zatorre RJ, Jones-Gotman M, Evans AC, Meyer E. 1992. Functional localization and lateralization of human olfactory cortex. *Nature.* 360: 339-340, Doi:10.1038/360339a0
- Zelano C, Montag J, Johnson B, Khan R, Sobel N. 2007. Dissociated representations of irritation and valence in human primary olfactory cortex. *J Neurophysiol.* 97: 1969-1976, Doi: 10.1152/jn.01122.2006

Annexe 1: Improving the Assessment of Trigeminal Sensitivity: a Pilot Study

Benoît Jobin^{1,2}, Cécilia Tremblay¹, Fanny Lécuyer-Giguère², Jason Steffener², Johannes Frasnelli^{1,2},

Article publié dans le journal *Chemosensory Perception*

Jobin B, Tremblay C, Giguère FL, Steffener J, Frasnelli J (2020) Improving the Assessment of Trigeminal Sensitivity: a Pilot Study. *Chemosensory Perception*. Doi : <https://doi.org/10.1007/s12078-020-09281-0>.

Affiliations

1. Department of Anatomy, Université du Québec à Trois-Rivières, Québec (QC), Canada
2. Research Center, Sacré-Coeur Hospital of Montreal, 5400 boul. Gouin Ouest, Montréal, Québec, H4J 1C5, Canada
3. Faculty of Health Sciences, University of Ottawa, 125 University, Ottawa, Ontario, K1N 6N5, Canada

Contribution à l'article

En tant que 2^e auteure de l'article, j'ai contribué à la conception et à la planification de l'étude, l'interprétation des données et à l'écriture et la révision de l'article.

Abstract

Introduction: The trigeminal system is a chemosensory system, next to smell and taste, allowing intranasal sensations such as freshness, spiciness, etc. The lateralization task is used to measure trigeminal sensitivity and consists in identifying the nostril stimulated by an odorous substance in a two-alternative forced-choice procedure. However, when performed in the standard method, this task takes almost 25 to 30 min to administer and only gives access to few information.

Methods: The aim of this pilot study was to compare two alternative methods of administering the lateralization task with the standard method in a group of 53 participants (41.6 years; 32 women). Specifically, we compared (1) the standard method of 40 constant stimuli with a duration of 500 ms, (2) a short version of 20 variable stimuli ranging from 200 to 600 ms (different duration method—DD), and (3) an automatic adaptive staircase method where the test adjusts the duration of stimulation according to the participant's responses (adaptive duration method—AD).

Results: Based on the number of correct answers and the thresholds obtained with the automatic staircase method, the average scores for the two alternative methods correlate with the score at the standard method. In addition, both alternative methods are able to discriminate between participants with a high sensitivity and those with a lower sensitivity. Finally, the DD method is significantly shorter in terms of administration time than the other two methods.

Conclusion: This pilot study presents two novel methods to evaluate trigeminal sensitivity which each have a specific superiority over the established technique.

Implications: The DD method cuts testing time in half whereas the AD method provides threshold estimates for individual nostrils.

Keywords: Chemosensory perception, Measurement, Localization, Trigeminal system, Olfactometer

Introduction

The trigeminal system is a chemical sense, next to smell and taste, that allows the perception of chemical information through stimulation of chemoreceptors located on the trigeminal nerve (cranial nerve V) (Tucker 1971; Doty 1975). It allows the perception of sensations such as freshness, warmth, burning, and pungency from odorous stimuli (Doty et al. 1978; Laska et al. 1997; Frasnelli et al. 2011a). The olfactory and trigeminal systems are closely linked. Indeed, almost all odorants lead to the activation of both systems, at least in higher concentrations (Doty et al. 1978). The trigeminal system has received particular attention recently, as it allows for the distinction between olfactory dysfunction due to Parkinson's disease and other forms of

olfactory dysfunction (Tremblay et al. 2017, 2019), which may be used for early detection of Parkinson's disease.

Typically, the trigeminal system is behaviorally assessed using the trigeminal lateralization task (Kobal et al. 1989; Berg et al. 1998; Hummel et al. 2003). This task is based on the fact that for humans, the localization of an odorant, i.e., the identification of the stimulated nostril following monorhinal stimulation, is only possible if the stimulus activates the trigeminal system (Kobal et al. 1989). In other words, we cannot localize pure olfactory stimuli. The lateralization task consists in presenting a trigeminal stimulus of a given concentration and duration to one nostril while odorless air is presented to the other nostril. Participants are then instructed to identify the stimulated nostril (forced choice). Since for a single trial, the success rate is 50%, typically 40 randomized and counterbalanced repetitions are carried out (Hummel et al. 2003; Wysocki et al. 2003; Frasnelli et al. 2006; Tremblay et al. 2017). Trigeminal sensitivity is then estimated by the number of correct identifications. This technique is widely used in olfactory studies and provides a reliable behavioral assessment of the trigeminal sensitivity (Berg et al. 1998; Kobal et al. 1989; Roscher et al. 1996). It allows to discriminate individuals with reduced trigeminal sensitivity associated to olfactory dysfunction and controls (Hummel et al. 2003).

The test has the advantage of being easy to administer, as odorants can be presented in polypropylene squeeze bottles or rigid glass bottles (Wysocki et al. 2003; Tremblay and Frasnelli 2018; Frasnelli and Hummel 2005; Hummel et al. 2003; Frasnelli et al. 2006, 2011b). However, it has some important limitations. First, since an inter-stimulus interval (ISI) of 35–40 s has to be respected in order to avoid habituation (Hummel and Kobal 1999), test duration is in the range of 30 min. This poses a problem for participants' vigilance and renders the test not well applicable in a clinical context. Second, the approach does not allow for the estimation of a perception threshold, as the same stimulus is presented throughout the test. Rather, the method has a poor resolution as it scores range between 20 if the participant takes a guess at each trial and 40 if the participant has a perfect performance. Third, this method does not allow for an estimation of sensitivity for each nostril separately. Therefore, there is a need for an improved test with shorter duration and/or scores of higher data quality.

One approach to improve the test is to use stimuli of different concentrations (Wysocki et al. 1997). Since the trigeminal system acts as a mass detector rather than a concentration detector (Cometto-Muñiz and Cain 1984; Cometto-Muñiz 1998) and since it is technically easier to vary the duration of the stimulus than its concentration, another approach has been introduced (Naka et al. 2014). Here, trigeminal stimuli are varied in terms of duration rather than concentration. Indeed, increasing the duration of a given stimulus yields stronger (perceived) intensity which is indistinguishable from the same stimulus in a higher concentration but a shorter duration (Frasnelli et al. 2003). With the advent of low priced olfactometers (Lundström et al. 2010)—devices for the automated, computer-controlled delivery of odorous stimuli—and even portable devices (Hummel et al. 2016), this approach provides a shortcut to present stimuli with different intensities potentially allowing for the measure of perception thresholds.

We therefore set out to investigate the potential of two alternative lateralization methods to evaluate trigeminal sensitivity: (1) the different duration (DD) method with a total of 20 stimulations of different durations and (2) the adaptive duration (AD) method that consist of an adaptive staircase adjusting the stimulus duration according to the participant's response. We assessed their validity by comparing them to the standard procedure with a single stimulus duration.

We hypothesized that (1) scores obtained with DD and AD correlated with those of the standard method; (2) DD and AD allow for the discrimination of participants with a higher trigeminal sensitivity from participants with a lower trigeminal sensitivity as determined by the standard method; and (3) DD and AD have shorter test durations than the standard method.

Material and Methods

The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki on biomedical research involving human subjects and approved by the local Ethics Committee of the Sacré-Coeur Hospital (SCH) in Montréal (CIUSSS-NIM #2017-1321). After a detailed explanation of the study, all participants gave their written consent prior to inclusion.

Participants

A total of 58 individuals were recruited through ads posted at SCH and online. We excluded participants with (1) a diagnosis of neurological disease or any psychiatric disorder; (2) nasal congestion, nasal polyps, septum deviation, or sinusitis; (3) a history of traumatic brain injury; (4) seasonal allergies; and (5) substance abuse including tobacco. Participants were instructed not to eat or drink (other than water) 1 h prior to testing. We also excluded participants with olfactory dysfunction as assessed by the identification test of the Sniffin' Sticks test (Hummel et al. 1997). Specifically, we only included participants with scores corresponding to normosmia (18–40 years of age: score > 11/16; 41–60 years of age: score > 10/16; > 61 years of age: score > 9/16; Oleszkiewicz et al. 2019). In total, 53 participants (mean age: 41.6, standard deviation: 20.9; range 19–83) years (32 women) were thus included in the study.

Trigeminal Evaluation

For all tests, stimuli were presented by an olfactometer to the participants. We used an eight-channel computer-controlled (PsychoPy 2.7.3; Python (Peirce 2007)) air compressor (Lundström et al. 2010), in which the presentation of odorants is possible when the compressed air is odorized by passing through containers (glass bottles; 60 mL) filled with odorants. The stimuli were delivered through an air pulse, flow rate of 2.5 L/min. We used eucalyptol (Novotaste, Dollard-Des-Ormeaux, QC; 5 mL, 5% in propylene glycol) as stimulus with known trigeminal impact (Frasnelli et al. 2017). One tube was inserted in each nostril, these tubes were both linked to channels connected to one bottle containing 5 mL of eucalyptol and one empty bottle for neutral air. By doing so, for each stimulation, one nostril received eucalyptol, while the other nostril received odorless air. The participant had to identify the nostril stimulated with eucalyptol. The stimuli were presented with an ISI of 35 s between each stimulation to avoid any effects of habituation/sensitization to the odorant.

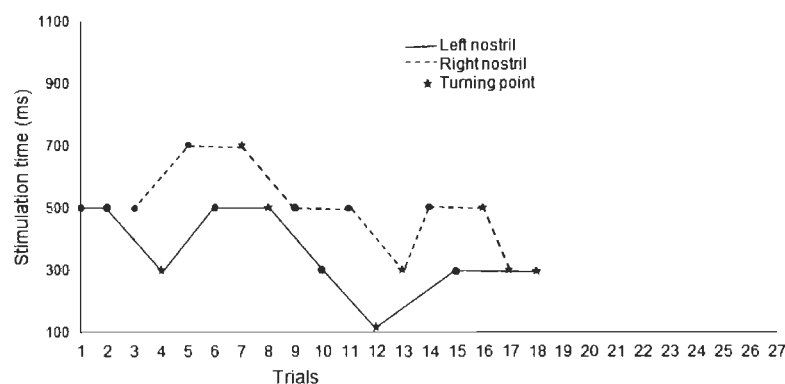
All participants were submitted to three lateralization tasks, in a pseudo-randomized order.

1. Standard method. Participants received a total of 40 stimulations, 20 in each nostril (pseudo-randomized, counterbalanced). All the stimuli had a duration of 500 ms. The number of correct localizations was counted to obtain an individual score out of 40. A higher value indicates a higher trigeminal sensitivity.

2. Different duration method. In this method, participants received four stimuli (two on each nostril; pseudorandomized, counterbalanced) of five different durations (200 ms, 300 ms, 400 ms, 500 ms, and 600 ms), resulting in a total of 20 trials. The number of correct localizations was counted to obtain an individual score out of 20. Further, we counted the number of correct trials per duration (0 to 4).

3. Adaptive duration method. In this method, the same procedure was used simultaneously for both nostrils in a randomly interleaved manner. We followed a staircase procedure; each staircase (left and right nostril) started with a first stimulation of 500 ms. Stimulus duration was either reduced or increased according to the participant's response: after two consecutive correct trials, stimulus duration was reduced by 200 ms. After incorrect localization, however, stimulus duration was increased by 200 ms. The minimal stimulus duration was 100 ms. After four reversal points (increase or decrease in stimulation duration) for each staircase separately, the test ended. For each side, the average of the four reversal durations was used as an estimate of the detection threshold with higher values indicating lower trigeminal sensitivity. We therefore obtained a threshold for the left and one for the right nostril (see Fig. 1). Such adaptive techniques have accuracies in the range of 70% (Leek 2001).

Figure 1. An example of scoring for the AD method



Procedure

Participants were stimulated passively (Frasnelli et al. 2008), i.e., air was blown into their nostrils. After installation of the tubing into the nostrils, participants were instructed to look at

a computer screen. During the experiment a white cross was presented in the middle of the screen. Shortly before stimulation, the cross turned red for a duration of 1500 ms during which the participants were instructed to exhale. Then, the cross turned blue, and the participants were instructed to hold their breath, and the stimulus was delivered. After stimulus presentation, participants identified the stimulated nostril by pressing the left or right arrow on a keyboard. Then, the cross turned white again to indicate the ISI during which participants could breathe normally. This automated procedure was the same for all three methods.

Analysis

Statistical analysis was performed using SPSS software (23.0; IBM Inc., Chicago IL). First, we performed Spearman's rank correlations to verify whether total score and sub-scores of two alternative methods correlate with scores at the standard method. Second, we formed two groups (high sensitivity, low sensitivity) based on the median score at the standard method. To test the validity of DD, we computed a repeated-measures (rm) ANOVA (all ANOVAs with Greenhouse-Geisser correction) with group (2 levels: high sensitivity, low sensitivity) as between subject factor and stimulation duration (5 levels: 200 ms, 300 ms, 400 ms, 500 ms, and 600 ms) as within subject variable. Then, we performed t tests between groups for each stimulation duration scores. To test the validity of the AD, we computed a rm ANOVA with group (2 levels: high sensitivity, low sensitivity) as between-subject factor and side (2 levels: left nostril, right nostril) as within-subject variable. Next, we performed receiver operating characteristics (ROC) curves to compare air under the curves (AUC) which represent the efficiency to discriminate between high and low sensitivity groups of DD and AD methods. Third, we compared test durations. Given that the standard method (23.3-min test duration) and the DD (11.7-min test duration) have constant durations and the duration of the AD method differed based on the number of trials performed to reach four reversal points, we only performed a one-sample t tests to compare the AD's time duration with the standard method's duration. We set α at 0.05 and used a Bonferroni-Holm correction for multiple comparisons.

Results

Mean scores at each method are described in Table 1.

Table 1. Mean scores of participants at individual methods

Test	Mean	SD
Standard method		
Total score (out of 40)	31.83	7.03
Different duration method		
Score at 200ms (out of 4)	2.83	1.09
Score at 300ms (out of 4)	3.25	0.99
Score at 400ms (out of 4)	3.20	1.04
Score at 500ms (out of 4)	3.47	0.75
Score at 600ms (out of 4)	3.50	0.70
Total score (out of 20)	16.30	3.30
Alternative duration method		
Left nostril threshold (ms)	579	635
Right nostril threshold (ms)	530	640

Correlations

Scores obtained in both new tests were significantly correlated to those of the standard method: DD (total score: $r = 0.76$, $p < 0.001$; 200 ms: $r = 0.51$, $p < 0.001$; 300 ms: $r = 0.60$, $p < 0.001$, 400 ms: $r = 0.54$, $p < 0.001$, 500 ms: $r = 0.43$, $p < 0.001$, 600 ms: $r = 0.51$, $p < 0.001$) and AD (left nostril: $r = -0.48$, $p < 0.001$; right nostril $r = -0.61$, $p < 0.001$) (see Fig. 2).

Discrimination Between High and Low Sensitivity

For the DD, the ANOVA revealed a significant main effect of group [$F(1, 46) = 40.14$, $p < 0.001$, $R^2 = 0.47$] and duration [$F(3.28, 150.63) = 6.32$; $p < 0.001$, $R^2 = 0.12$]. Post hoc t tests revealed a significant difference between the high sensitivity group and the low sensitivity group for each stimulation duration (200 ms: $t(46) = -4.39$, $p < 0.001$; 300 ms: $t(37.11) = -4.40$, $p < 0.001$; 400 ms: $t(30.05) = -3.82$, $p < 0.001$; 500 ms: $t(31.36) = -2.53$, $p = .01$; 600 ms: $t(31.78) = -3.55$, $p = 0.001$). Further, independently of the group, post hoc test showed that the average score at 200 ms stimulation duration was significantly lower than the average score at durations of 500 ms and 600 ms. No other differences were found for other stimulus durations (see Fig. 3a).

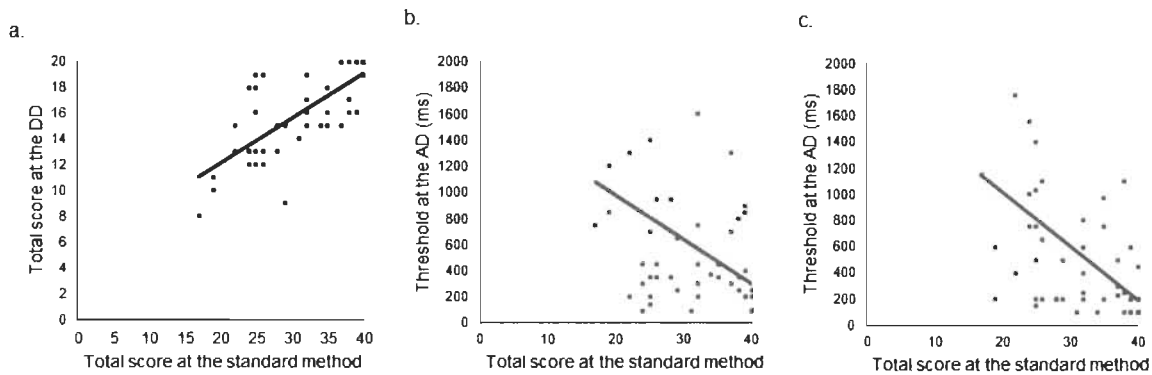
For the mean AD thresholds, ANOVA revealed a significant main effect of group [$F(1, 46) = 13.83, p < 0.001, R^2 = 0.23$]. There was no effect of side [$F(1, 46) = 0.45, p = 0.83$]. Post hoc t tests revealed a significant difference between the high sensitivity group and low sensitivity group for each nostril (left nostril: $t(27.80) = 2.30, p = 0.03$; right nostril: $t(26.50) = 2.79, p = .01$ (see Fig. 3b).

For the discrimination between high and low sensitivity groups, AUC for DD's total score was 0.91. At each duration, AUC was 0.80 at 200 ms, 0.82 at 300 ms, 0.75 at 400 ms, 0.66 at 500 ms, and 0.73 at 600 s. At the AD method, AUC was 0.69 for the left nostril threshold and 0.77 for the right nostril threshold (see Fig. 4).

Test Duration

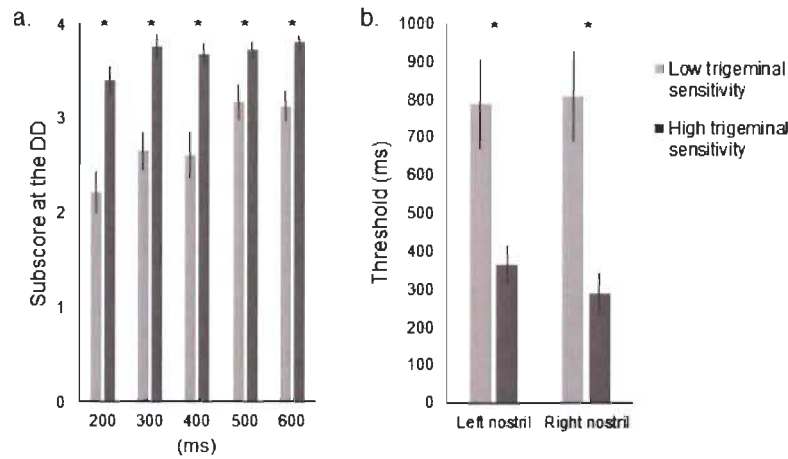
The total testing time for the DD was fixed at 11.7 min and the total testing time for standard method was fixed at 23.3 min. Mean duration for AD (31.0 min) was significantly longer than the duration time for the standard method ($t(52) = -8.76, p < 0.001$). In the AD, the average number of trials was 42.3 (36.0).

Figure 2. Correlations with the standard method



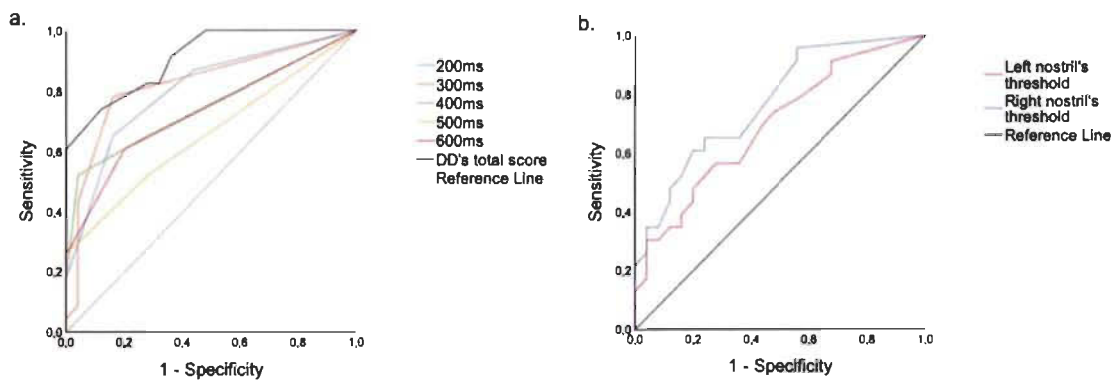
a Correlation between average total score at the standard method and average total score at the different duration method. *b*. Correlation between average total score at the standard method and the left nostril threshold obtained at the adaptive duration method. *c*. Correlation between average total score at the standard method and the right nostril threshold obtained at the adaptive duration method.

Figure 3. Average scores for new methods



a Average scores obtained at each duration stimulation for the different duration method (DD) from the lower trigeminal sensitivity group and the higher trigeminal sensitivity group. *b* Average thresholds obtained at the adaptive duration method (AD) from the lower trigeminal sensitivity group and the higher trigeminal sensitivity group. Error bars signify the standard error. Asterisks indicate significant differences between groups. $*p < 0.05$

Figure 4. Receiver operating characteristics (ROC) curves for the different duration method scores.



ROC curves for the different duration method scores *a.* and thresholds of each nostril at the adaptive duration method *b.* to discriminate between lower trigeminal sensitivity group and the higher trigeminal sensitivity group

Discussion

In this pilot study, we assessed two alternative methods to measure trigeminal sensitivity based on a lateralization task and compared them to a standard method to evaluate trigeminal sensitivity. We show that scores obtained with both novel methods correlate with scores obtained with the standard method. Additionally, they allow to distinguish between individuals with high or low sensitivity underlining the validity of the two novel methods. Furthermore, each method has a specific superiority over the standard method, as one procedure cuts testing time in half, whereas the other provides threshold estimates for individual nostrils.

We developed the DD using a reduced number of stimulations to reduce the total testing time and we included different stimulation durations to also get information on trigeminal threshold. Our results show that the total score and each subscore correlate with scores obtained at the standard method to assess trigeminal sensitivity and that DD's total score is excellent ($AUC = 0.91$) to discriminate between sensitive and less sensitive participants. This test is also shorter than the standard method, indicating that it is possible to measure trigeminal sensitivity with a test that lasts half the time of the standard research method.

This study is not the first to use 20 stimulations instead of 40 for a lateralization task (e.g. Croy et al. 2014; Naka et al. 2014; Oleszkiewicz et al. 2018), but it is one of the first, to our knowledge, to compare it to the standard method of 40 constant stimuli. Naka et al. (2014) compared a novel device to assess trigeminal sensitivity, using three different concentrations of CO_2 , with a lateralization task of 20 constant stimulations. The results obtained with this new device partially correlated with the lateralization task, only with the two highest CO_2 concentrations. Another interesting shorter lateralization task of 26 stimulations is included in the battery developed by Huart et al. (2019). Although this device has good test-retest reliability, it has the same weakness as earlier tests as stimuli of the same strength are presented repeatedly. In the present study, the DD total score and score at each duration correlate with the standard method suggesting that they measure the same underlying variable.

Compared to the different methods discussed, the DD could provide even or more information on trigeminal sensitivity in a shorter assessment time. Specifically, in addition to a global score, it provides a score for each stimulation duration. In theory, the total score at each

duration could be used to fit a dose response curve (Lotsch et al. 2004), from which a threshold duration could be obtained. However, this was not possible with the current data set since participants had scores significantly above chance even for the shortest duration. Moreover, there is probably a lack of difference in durations intervals and ceiling effects, at least for the 300 ms to 600 ms durations in the high trigeminal sensitivity group. Future studies aiming at using this approach should include both shorter stimulus durations and use log-spacing intervals since the nose is an imperfect mass integrator (Wise et al. 2004, 2005, 2006, 2007, 2009). That being said, this DD method is promising, and future studies should further develop this method.

The second method we developed, AD, allowed us to assess a duration threshold for both nostrils individually. Again, this technique yields scores that correlated with the standard method and allowed for an acceptable ($AUC \sim 0.7$) distinction of high vs low sensitivity. Although this technique takes more time to carry out, it has the advantage of providing an independent measurement for each nostril, which can be very useful in experimental contexts. Both a maximum-likelihood curve-fitting technique (Watson 2017) or Bayesian methods (Höchenberger and Ohla 2019) could also reduce the duration of the staircase procedure.

A limitation of our study is that we did not assess test-retest reliability. In the literature, lateralization tasks have a good test-retest reliability in the range of $r = 0.41$ to 0.69 (e.g., Frasnelli and Hummel 2005; Naka et al. 2014; Huart et al. 2019). Here, we validated DD and AD methods based on convergent validity with a standard lateralization task which was on the same device and with the same stimulus (eucalyptol). As we mentioned previously, each score obtained at the DD/AD methods correlates with the standard method. Nevertheless, future studies should include assessments of test-retest reliability.

This study provides a promising avenue to develop new methods of assessing intranasal trigeminal sensitivity. Including our results and results of future studies, portable devices similar to the one presented by Hummel et al. (2016) could be developed and be used in a clinical context.

In conclusion, here we present two novel methods to evaluate trigeminal sensitivity which each have a specific superiority over the established technique. The DD method cuts testing time in half and potentially allows for the determination of duration thresholds. The AD method

takes more time to be carried out, but has the advantage to provide duration threshold for individual nostrils.

Acknowledgments

We would like to thank S.Wang and J. Desrosiers for their contribution to the testing and we thank all the participants in this study.

Funding

This work was supported by grants from NSERC (Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada) [2015-04597], FRQS (Fonds de Recherche du Québec-Santé) scholar [#32618] and the UQTR Research Chair in Chemosensory Neuroanatomy. BJ is supported by an CRSNG scholarship and the J.A De Sève Scholarship of the CIUSSS du Nord-de-l'Île-de-Montréal.

References

- Berg J, Hummel T, Huang G, Doty R (1998) Trigeminal impact of odorants assessed with lateralized stimulation. *Chem Senses* 23:587
- Cometto-Muñiz J (1998) Trigeminal and olfactory chemosensory impact of selected Terpenes. *Pharmacol Biochem Behav* 60:765–770
- Cometto-Muñiz JE, Cain WS (1984) Temporal integration of pungency. *Chem Senses* 8:315–327
- Croy I, Schulz M, Blumrich A, Hummel C, Gerber J, Hummel T (2014) Human olfactory lateralization requires trigeminal activation. *NeuroImage* 98:289–295
- Doty RL (1975) Intranasal trigeminal detection of chemical vapors by humans. *Physiol Behav* 14:855–859
- Doty RL, Brugger WE, Jurs PC, Orndorff MA, Snyder PJ, Lowry LD (1978) Intranasal trigeminal stimulation volatiles: psychometric responses from anosmic and normal humans. *Physiol Behav* 20:175–185
- Frasnelli J, Hummel T (2005) Intranasal trigeminal thresholds in healthy subjects. *Environ Toxicol Pharmacol* 19:575–580
- Frasnelli J, Lötsch J, Hummel T (2003) Event-related potentials to intranasal trigeminal stimuli change in relation to stimulus concentration and stimulus duration. *J Clin Neurophysiol* 20:80–86
- Frasnelli J, Schuster B, Hummel T (2006) Interactions between olfaction and the trigeminal system: what can be learned from olfactory loss. *Cereb Cortex* 17:2268–2275

Frasnelli J, Charbonneau G, Collignon O, Lepore F (2008) Odor localization and sniffing. *Chem Senses* 34:139–144

Frasnelli J, Albrecht J, Bryant B, Lundström JN (2011a) Perception of specific trigeminal chemosensory agonists. *Neuroscience* 189:377–383

Frasnelli J, Hummel T, Berg J, Huang G, Doty RL (2011b) Intranasal localizability of odorants: influence of stimulus volume. *Chem Senses* 36:405–410

Frasnelli J, Gingras-Lessard F, Robert J, Steffener J (2017) The effect of stimulus duration on the nostril localization of eucalyptol. *Chem Senses* 42:303–308

Höchenberger R, Ohla K (2019) Estimation of olfactory sensitivity using a Bayesian adaptive method. *Nutrients* 11:1278

Huart C, Hummel T, Kaehling C, Konstantinidis I, Hox V, Mouraux A, Rombaux P (2019) Development of a new psychophysical method to assess intranasal trigeminal chemosensory function. *Rhinology* 57:375–384

Hummel T, Kobal G (1999) Chemosensory event-related potentials to trigeminal stimuli change in relation to the interval between repetitive stimulation of the nasal mucosa. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 256:16–21

Hummel T, Sekinger B, Wolf SR, Pauli E, Kobal G (1997) ‘Sniffin’ sticks: olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chem Senses* 22:39–52

Hummel T, Futschik T, Frasnelli J, Hüttenbrink K-B (2003) Effects of olfactory function, age, and gender on trigeminally mediated sensations: a study based on the lateralization of chemosensory stimuli. *Toxicol Lett* 140–141:273–280

Hummel T, Kaehling C, Grosse F (2016) Automated assessment of intranasal trigeminal function. *Rhinology* 54:27–31

Kobal G, Van Toller S, Hummel T (1989) Is there directional smelling? *Experientia* 45:130–132

Laska M, Distel H, Hudson R (1997) Trigeminal perception of odorant quality in congenitally anosmic subjects. *Chem Senses* 22:447–456

Leek MR (2001) Adaptive procedures in psychophysical research. *Percept Psychophys* 63(8):1279–1292

Lotsch J, Lange C, Hummel T (2004) A simple and reliable method for clinical assessment of odor thresholds. *Chem Senses* 29:311–317

Lundström JN, Gordon AR, Alden EC, Boesveldt S, Albrecht J (2010) Methods for building an inexpensive computer-controlled olfactometer for temporally-precise experiments. *Int J Psychophysiol* 78:179–189

Naka A, Wolf A, Renner B, Mueller CA (2014) A novel device for the clinical assessment of intranasal trigeminal sensitivity. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 123:428–433

Annexe 2: Orthonasal, but not Retronasal Olfaction Is Specifically Impaired in Parkinson's Disease

Émilie Aubry-Lafontaine¹, Cécilia Tremblay¹, Pascali Durand-Martel², Nicholas Dupré^{3,4}, Johannes Frasnelli^{1,5}

Article publié dans le journal *Chemical Senses*

Aubry-Lafontaine E, Tremblay C, Durand-Martel P, Dupre N, Frasnelli J (2020) Orthonasal, but not Retronasal Olfaction Is Specifically Impaired in Parkinson's Disease. *Chem Senses* 45, 401-406. Doi : <https://doi.org/10.1093/chemse/bjaa024>.

Affiliations

1. Department of Anatomy, Université du Québec à Trois-Rivières, Québec (QC), Canada
2. Department of Neurology, Centre intégré Universitaire de Santé et de Services Sociaux de la Mauricie-et-du-Centre-du-Québec (CIUSSS-MCQ), Québec (QC), Canada
3. Division of Neurosciences, Centre Hospitalier Universitaire de Québec, Université Laval, Québec City, (QC), Canada
4. Department of Medicine, Faculty of Medicine, Université Laval, Québec City, (QC), Canada
5. Research Center, Hôpital du Sacré-Coeur, Québec (QC), Canada

Contribution à l'article

En tant que 2^e auteure de l'article, j'ai contribué à la conception et planification de l'étude, le recrutement des patients, les statistiques et l'interprétation des données ainsi qu'à l'écriture et la révision de l'article.

Abstract:

Olfactory dysfunction (OD) in Parkinson's disease (PD) appears several years before the presence of motor disturbance. Olfactory testing has the potential to serve as a tool for early

detection of PD, but OD is not specific to PD as it affects up to 20% of the general population. Olfaction includes an orthonasal and a retronasal components; in some forms of OD, retronasal olfactory function is preserved. We aimed to evaluate whether combined testing of both components allows for discriminating between PD-related OD and non-parkinsonian OD (NPOD).

The objective of this study is to evaluate orthonasal and retronasal olfactory function in PD patients and compare them to a NPOD group and to healthy controls. We hypothesized that this combined testing allows to distinguish PD patients from both other groups. We included 32 PD patients, 25 NPOD patients and 15 healthy controls.

Both olfactory components were impaired in PD and NPOD patients, compared to controls; however, NPOD patients had significantly better orthonasal scores than PD patients. Furthermore, the ratio of retronasal / orthonasal score was higher in PD than in both other groups. In the NPOD group, orthonasal and retronasal scores were significantly correlated; no such correlation could be observed in PD patients.

In summary, PD patients seem to rely on compensatory mechanisms for flavor perception. Combined orthonasal and retronasal olfactory testing may contribute to differentiate PD patients from patients with NPOD.

Keywords: Parkinson's disease, orthonasal olfaction, retronasal olfaction, olfactory dysfunction, non-motor symptom.

Introduction

The diagnosis of Parkinson's Disease (PD) is based on the presence of motor disturbances such as bradykinesia, rigidity and resting tremor, that appear late in the development of the disease. However, olfactory dysfunction (OD) is one of the first clinical signs observed and appears several years before the appearance of motor disturbance (Ponsen, Stoffers et al. 2004, Doty, 2012). Furthermore, OD is a highly frequent non-motor symptom of PD that is present in more than 90% of patients (Doty, Deems et al. 1988, Haehner, Boesveldt et al. 2009, Doty 2012). Moreover, the *Movement Disorder Society* has now recognized OD as a diagnostic criterion for the disease (Berg, Postuma et al. 2015). OD is therefore an excellent

candidate to contribute to an early diagnosis of the disease in order to adopt a healthy lifestyle quickly to address potential barriers such as depression, apathy and postural instability in order to maintain a good quality of life over a longer period of time.

However, OD is not specific to PD, as up to 20% of the general population suffer from different forms of OD (Landis, Konnerth et al. 2004). Different medical conditions can cause OD, but the most common causes are sinunasal disease, including chronic (rhino-) sinusitis, and presence of polyps (sinunasal OD), previous upper respiratory tract infections (postviral OD), and traumatic brain injury (posttraumatic OD) (Landis, Konnerth et al. 2004, Yang and Pinto 2016, Boesveldt, Postma et al. 2017). The evaluation of different orthonasal olfactory tasks (e.g., odor identification, odor discrimination, olfactory threshold) and the clinical history of a patient allow us to be oriented toward the underlying causes of the olfactory damage (Whitcroft, Cuevas et al. 2017). For instance, PD patients perform relatively well in odor threshold testing, but poorly in odor identification and discrimination compared with patients with non-Parkinsonian OD (NPOD) (Whitcroft, Cuevas et al. 2017).

The sense of smell can be stimulated via an orthonasal or a retronasal route. Orthonasal olfaction is the perception of odors where the source is somewhere in the environment and the odorous molecules enter the nasal cavity via the nostrils, typically during inhalation. Retronasal olfaction, in turn, describes the perception of odors where the source is located within the oral cavity; volatile molecules reach the nasal cavity via the nasopharynx (from behind, hence “retronasal”) (Shepherd 2006). Retronasal olfaction is the major contributor to flavor perception, for which it is supported by taste perception, i.e., sweet, salty, sour, bitter and umami, as well as the perception of the texture, temperature, etc. (Goldberg, Wang et al. 2018). Although orthonasal and retronasal olfaction share the same central pathways, their respective stimulation does not lead to identical central activation patterns, in line with the notion that smells and flavors of some foods are different (e.g., cheese) (Small, Gerber et al. 2005, Hummel, Heilmann et al. 2006, Shepherd 2006).

Typically, orthonasal and retronasal olfaction are reduced simultaneously, as it has been shown for different forms of OD, including congenital OD, sinunasal OD, post-traumatic OD, post-infectious OD, idiopathic OD and others (Landis, Giger et al. 2003, Rombaux, Mouraux et

al. 2009, Croy, Hoffmann et al. 2014, Goldberg, Wang et al. 2018). Although OD is well established in PD (Haehner, Boesveldt et al. 2009, Berg, Postuma et al. 2015), retronasal olfaction in PD remains relatively unstudied. Only two studies reported a reduction of both orthonasal and retronasal olfaction in PD (Landis, Cao Van et al. 2009, De Rosa, Nettore et al. 2019). Specifically, one report compared orthonasal and retronasal olfaction in PD patients (Landis, Cao Van et al. 2009) while the other investigated flavor perception in PD patients (De Rosa, Nettore et al. 2019). However, no study has yet attempted to compare orthonasal and retronasal function in PD patients to patients with other forms of OD. A possible PD-specific profile may prove to be useful in the search for olfactory tests as early tools for screening PD.

The objective of this research project was therefore to compare retronasal and orthonasal odor identification between PD patients, NPOD patients, and healthy controls. We hypothesized that PD patients have a specific OD profile that is distinct from NPOD patients and controls. In doing so, we hope to demonstrate the relevance of using multi-component olfactory tests in the early detection of PD.

Methods

Study participants

All participants provided written consent after being informed of the nature of the study and the extent of their participation. The study protocol was in accordance with the *Declaration of Helsinki* on biomedical research involving human subjects and was approved by the *Ethics Committee of the University of Quebec at Trois-Rivières* (UQTR). A total of 72 participants were included in this study (report to Table 1).

(1) We included 32 PD patients (14 women, 18 men, mean age 64.5 + 8.2 years, range of 50-79 years). After screening 34 participants with PD through a collaboration with the *Centre Intégré Universitaire de Santé et de Services Sociaux de la Mauricie-et-du-Centre-du-Québec* (CIUSSS-MCQ), *Parkinson Québec* and the local association *Parkinson Mauricie*, we excluded two participants (one with atypical PD symptoms, one with an intra-thalamic stimulator). All patients were diagnosed with idiopathic PD by neurologists according to the *UK Parkinson's Disease Society Brain Bank* (UKPDSBB) criteria and agreed to provide medical records through Santé Québec.

(2) We included 25 NPOD patients (16 women, 9 men, mean age 63.3 ± 9.1 years, range of 32-83 years). After screening 31 NPOD patients from our lab's database, we excluded five patients that had normal odor identification scores and one participant with phantosmia. The causes for OD in this group were postviral OD (n=7), posttraumatic OD (n=3), sinunasal OD (n=2), idiopathic OD (n=9), and other (n=4).

(3) We included 15 healthy controls participants (6 women, 9 men, mean age 66.9 ± 5.9 years, range 54-76 years). After screening 25 participants, recruited via a local association (*Femmes dynamiques de Trois-Rivières*) and through ads placed throughout the community, we excluded 10 participants that showed reduced olfactory function at testing.

Groups did not differ significantly for age ($F [2.71] = 60.379$, $P = 0.405$) and sex ($F [2.71] = 0.382$, $P = 0.224$). In order to ascertain that there were no cognitive deficits in any group, we evaluated working memory function using the *n*-back test (Miller, Price et al. 2009). We did not observe any group difference in accuracy.

Table 1. Characteristics of study population and main results

Variables	PD participants (n=32)	NPOD participants (n=25)	Controls (n=15)
Sex (women; men)	14; 18	16; 9	6; 9
Age of participants	64.5 ± 8.2	63.3 ± 9.1	66.9 ± 5.9
Women	63.9 ± 7.3	63.1 ± 9.3	67.5 ± 4.9
Men	65.0 ± 8.9	61.1 ± 10.6	66.4 ± 6.7
Range (yrs)	50-79 y	32-83 y	54-76 y
Disease duration (yrs)**	5.6 ± 3.6	11.4 ± 15.3	NA
Levo-dopa Equivalent	971.0 ± 865.0	NA	NA
Daily Dose (mg)	282.0 - 3462		
Orthonasal			
Identification score (%)	39.5 ± 15.3	50.0 ± 16.6	83.8 ± 7.0
Retronasal			
Identification score (%)	$58.4 \pm 14.2^*$	$64.4 \pm 18.0^*$	78.0 ± 10.0

**This information is missing for 2 participants, *This information is missing for 1 participant

Olfactory testing

(1) First, the orthonasal olfactory function was assessed using the identification test of the Sniffin' Sticks test kit (Burghart, Wedel, Germany) (Hummel, Kobal et al. 2007). In short, a total of 16 common odors were presented by means of markers, filled with 4 ml of odorous substances. The experimenter presented the pens about 2 cm in front of both nostrils for about 3s. The participants were asked to identify each odorant from a list of 4 descriptors. We summed the number of correct identifications to a raw score that ranged from 0 to 16; a score lower than eleven (11) is indicative of hyposmia (Hummel, Kobal et al. 2007). We then used the percentage of the maximum score (*ortho*) for further analysis.

(2) Retronasal olfactory function was assessed with a kit test based on aromatized powders, as described previously (Heilmann, Strehle et al. 2002, Landis, Cao Van et al. 2009). Specifically, we used 20 different commonly available odorized powders (report to Table 2). Stimuli were selected according to their texture and the degree to which they are familiar to the general population. Approximately 0.05g of each stimulus were put into a small paper cup (90 ml; Goodtimes, Mississauga, ON). The participants themselves then poured the content of the cup onto the midline of their tongue. In analogy to the orthonasal test, participants were asked to identify each stimulus by selecting 1 of 4 verbal descriptors. Between the administration of each stimulus, participants rinsed their mouths with water and waited approximately 30s before the next stimulus to avoid mixing the odorants and habituation. We summed the number of correct responses to a raw score that ranged from 0 to 20. We used the percentage of the maximum score (*retro*) for further analysis.

(3) As a next step and in order to evaluate retronasal flavor perception independent of orthonasal olfactory function, we calculated a score of retronasal performance relative to orthonasal performance.

This was done by this equation:

$$retro_{rel} = \frac{retro}{ortho} \times 100$$

Table 2. Description of target and distractor items used in the retronasal identification test

Target item	Distractor items	Name and source of grocery-available product
1. Peach	Orange, raspberry, pineapple	No Name Jelly Powder, Peach
2. Black pepper	Mint, onion, coffee	Dion Pure Black Pepper
3. Banana	Hazelnut, cocoa, caramel	Jell-O Jelly Powder, Banana
4. Celery	Smoked meat, fish, garlic	Dion Celery Salt
5. Cinnamon	Black pepper, coconut, caramel	Dion Ground Cinnamon
6. Mushroom	Fish, mustard, onion	Dion Ground Mushroom
7. Coconut	Cocoa, banana, strawberry	No Name Shredded Coconut
8. Coffee	Clove, black pepper, vanilla	PC Regular Decaffeinated Medium
9. Lemon	Cherry, raspberry, mustard	No Name Jelly Powder, Lemon
10. Garlic	Beef, black pepper, smoked meat	Dion Granulated Garlic
11. Lime	Peach, lemon, orange	No Name Jelly Powder, Lime
12. Almond	Celery, coffee, mustard	No Name Ground Almonds
13. Mustard	Clove, hazelnut, curry	Dion Ground Mustard
14. Caramel	Vanilla, banana, almond	Jell-O Instant Pudding, Butterscotch
15. Onion	Broccoli, curry, fish	Dion Onion Salt
16. Orange	Raspberry peach pineapple	No Name Jelly Powder, Orange
17. Mint	Black pepper, cinnamon, strawberry	Dion Crushed Mint
18. Chicken broth	Mushroom, broccoli, coffee	Knorr Chicken Broth
19. Vanilla	Cocoa, caramel, lemon	Jell-O Instant Pudding, Vanilla
20. Clove	Curry, garlic, cinnamon	McCormick Cloves Ground

Statistics

All statistical analyses were performed using *SPSS 24.0* (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). We compared olfactory identification scores between the 3 groups by computing repeated measures (rm) ANOVA, with *group* (3 levels: PD, NPOD, controls) and *sex* (2 levels: women, men) as between subject factors, and *test* (2 levels: *ortho*, *retro*) as within subject variable. To disentangle interactions, we computed subsequent univariate ANOVA analyses for each variable with *post-hoc* group comparisons.

Next, we analyzed the $\text{retro}_{\text{rel}}$ scores. First, we tested whether they were above 100%, which indicates superior scores in the retronasal test than what would be expected from the result in orthonasal testing. To do so, we carried out a one-sample t-tests for each group, with

the test value 100%. Second, we computed a univariate ANOVA with *group* (3 levels: PD, NPOD, controls) as between subject factor on the *retro_{rel}* scores. Finally, we computed Pearson's correlations between *ortho* and *retro* scores for each group separately.

Statistical significance was set at $P < 0.05$. For all multiple comparisons we applied Bonferroni-Holm corrections.

Results

With regards to olfactory scores, the rmANOVA revealed a significant interaction between *group* and *test* ($F [2.64] = 12.016, P < 0.001$), as well as significant main effects of *group* ($F [2.64] = 43.872, P < 0.001$) and *sex* ($F [1.64] = 8.236, P = 0.006$). *Post-hoc* tests showed that controls performed significantly better in orthonasal olfaction than both PD ($P < 0.001$) and NPOD ($P < 0.001$) and that NPOD performed significantly better than PD ($P = 0.018$). With regards to retronasal olfaction, controls performed significantly better than both PD ($P < 0.001$) and NPOD ($P = 0.009$). As opposed to orthonasal olfaction, no significant differences were found between NPOD and PD for retronasal olfaction (see Figure 1). Women performed significantly better than men in retronasal identification ($F [1.69] = 7.153, P = 0.009$, this comparison failed to reach significance for orthonasal identification).

We next investigated the effects of *group* on retronasal olfaction scores relative to orthonasal olfaction scores (*retro_{rel}*). First, we investigated whether scores were above 100%. This was the case for both PD ($p < 0.001$) and NPOD ($p < 0.001$) patients, but not for controls. Second, the ANOVA revealed a significant effect of *group* ($F [2.69] = 8.276, P = 0.001$). *Post-hoc* comparison revealed significant differences between all three groups. However, after correction the difference remained significant only for the comparison of PD and controls ($P < 0.001$).

We finally computed Pearson's correlation between *ortho* and *retro*. This was significant for the NPOD group ($r = 0.58; P < 0.003$), but not for PD patients nor controls.

Figure 1. Average orthonasal and retronasal olfactory scores for PD patients, NPOD patients and controls (C).

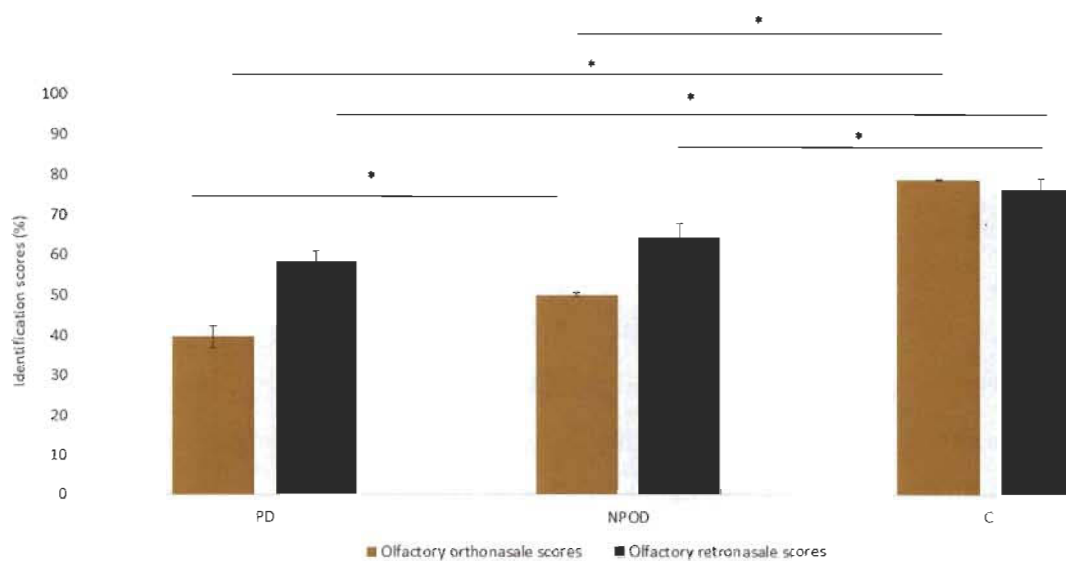
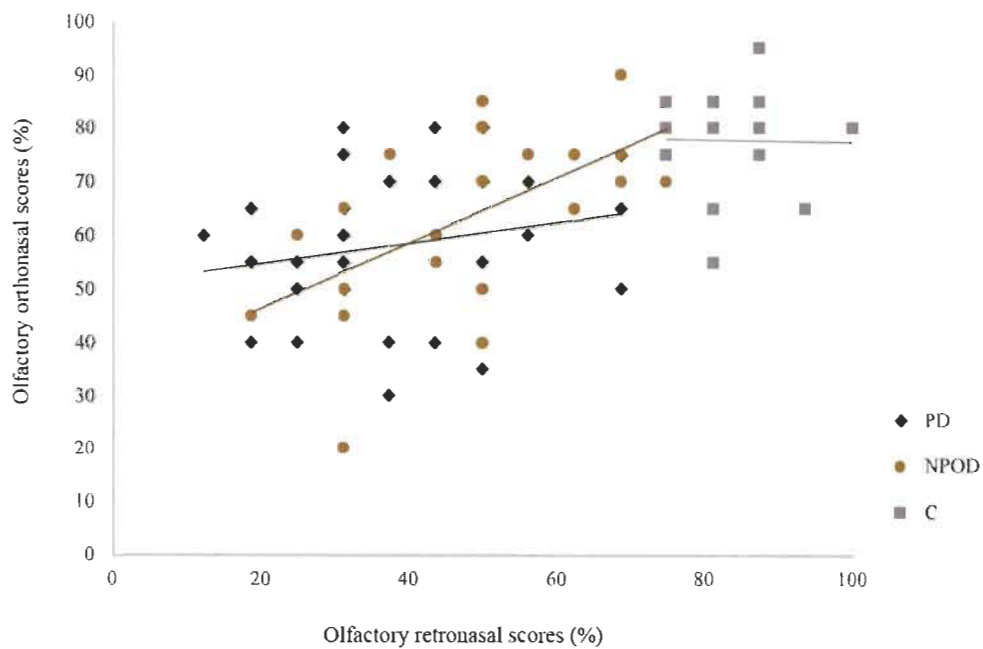


Figure 2. Correlation between orthonasal and retronasal scores for PD patients, NPOD patients and controls (C). The correlation is significant only for NPOD.



Discussion

Our study aimed to specifically evaluate orthonasal and retronasal olfaction in patients with PD and to compare them to patients with NPOD and to healthy controls. In both groups, orthonasal scores were more strongly affected than retronasal scores. Further, retronasal olfactory capacity appears to be less dependent on orthonasal olfactory function in PD, compared to other forms of OD. This suggests that PD patients have a specific OD profile that is distinct from the one of NPOD patients.

We observed reduced orthonasal and retronasal olfactory function in PD patients. With regards to orthonasal olfactory function, both PD and NPOD had worse results than controls. These results are consistent with the literature and further support the notion of olfactory dysfunction in PD (Meshulam, Moberg et al. 1998, Doty 2012, Rahayel, Frasnelli et al. 2012, Fullard, Morley et al. 2017, Tremblay, Durand-Martel et al. 2017). These results are also consistent with a previous study that demonstrates that the evaluation of the orthonasal olfactory components and the clinical history of a patient allows us to be oriented toward the underlying causes of the olfactory damage (Whitcroft, Cuevas et al. 2017). Retronasal olfaction, in turn, is relatively understudied in PD (Landis, Cao Van et al. 2009, De Rosa, Nettore et al. 2019). Our results are in line with these earlier reports.

Interestingly, both PD and NPOD patients $retro_{rel}$ scores were significantly above 100%, which was not the case for controls. This suggests that the retronasal score in both patient groups does not entirely depend on orthonasal olfaction. In fact, the retronasal test we used is not a pure olfactory test but rather a flavor test, as the flavor powders stimulate the gustatory and trigeminal systems in addition to the olfactory systems. Our results suggest that these non-olfactory components are important for flavor perception in OD due to PD and unrelated to PD, but that mainly PD patients benefit from additional gustatory and trigeminal input. Previous studies have investigated both sensory systems in PD. Olfactory dysfunction is typically associated to reduced trigeminal (Hummel, Futschik et al. 2003, Frasnelli, Schuster et al. 2006, Frasnelli, Schuster et al. 2007) and gustatory sensitivity (Landis, Scheibe et al. 2010). In contrast to this, trigeminal sensitivity is unaffected when OD is caused by PD (Tremblay, Durand Martel et al. 2017). Similarly, gustatory function is relatively unimpaired in PD as only a small percentage

(4-28%) of PD patients exhibit gustatory dysfunction (Shah, Deeb et al. 2009, Tarakad and Jankovic 2017, Haehner, Masala et al. 2019).

This suggests that PD patients are able to extract more information from flavor stimuli than patients with OD unrelated to PD. In fact, relative to orthonasal olfaction, PD patients had significantly higher retronasal scores than controls. This notion is further supported by the fact that retronasal scores were highly correlated to orthonasal ones in NPOD, whereas no such correlation was observable in PD patients; this is in line with an earlier report (Landis, Cao Van et al. 2009). In this context, one probable explanation for the lacking correlation between orthonasal and retronasal scores in controls may be the result of a ceiling effect. One has to be reminded that the tests we used were designed to identify individuals with reduced olfactory function rather than to distinguish between individuals with different degrees of normal olfactory function.

Our findings have important implications. First, our data suggests that the decrease in flavor perception is less pronounced in PD patients than what one would expect from the degree of orthonasal olfactory impairment. Impairment of flavor perception is often the main symptom of olfactory dysfunction (De Rosa, Nettore et al. 2019) and the reason why patients with OD seek help. Although, olfactory dysfunction precedes other symptoms and thus diagnosis of PD by several years (Ponsen, Stoffers et al. 2004, Doty 2012, Doty 2012), our data suggest that one could not rely on impaired flavor perception as the leading subjective symptom when screening for preclinical and subclinical PD. Second, since flavor perception seems to be less affected in PD patients, the consequences of olfactory dysfunction may be different for them than for NPOD patients. A change in diet is one of the results of OD unrelated to PD (Riera, Tsaousidou et al. 2017). This may not be the case for PD – or dietary changes may be different in PD than in NPOD patients – and has to be taken into account when counseling patients. Third, the combined assessment of orthonasal and retronasal olfactory function has the potential to discriminate between PD patients and NPOD. This is highly important if one aims to use olfactory testing for early screening for PD.

In conclusion, our study suggests that flavor perception in PD patients is better than one would expect from their orthonasal test scores. Although retronasal testing alone is not sufficient to allow a discrimination between both groups of patients, the combination of both orthonasal

and retronasal identification tests may increase the capacity to distinguish between PD patients and patients with NPOD. Future studies should evaluate same characteristic in patients with prodromal condition.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest

Funding

JF is a FRQS (Fonds de Recherche du Quebec - Santé) scholar (#32618) and holds the UQTR Research Chair in Chemosensory Neuroanatomy.

Acknowledgments

We would like to thank all the participants in this study, Parkinson Mauricie, Réseau Parkinson Quebec and the department of Neurology of CIUSSS-MCQ

References

- Berg, D., R. B. Postuma, C. H. Adler, B. R. Bloem, P. Chan, B. Dubois, T. Gasser, C. G. Goetz, G. Halliday, L. Joseph, A. E. Lang, I. Liepelt-Scarfone, I. Litvan, K. Marek, J. Obeso, W. Oertel, C. W. Olanow, W. Poewe, M. Stern and G. Deuschl (2015). "MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease." *Mov Disord* **30**(12): 1600-1611.
- Boesveldt, S., E. M. Postma, D. Boak, A. Welge-Luessen, V. Schopf, J. D. Mainland, J. Martens, J. Ngai and V. B. Duffy (2017). "Anosmia-A Clinical Review." *Chem Senses* **42**(7): 513-523.
- Croy, I., H. Hoffmann, C. Philpott, P. Rombaux, A. Welge-Luessen, J. Vodicka, I. Konstantinidis, E. Morera and T. Hummel (2014). "Retronasal testing of olfactory function: an investigation and comparison in seven countries." *Eur Arch Otorhinolaryngol* **271**(5): 1087-1095.
- De Rosa, A., I. C. Nettore, E. Cantone, L. Maione, S. Desiderio, S. Peluso, F. Sacca, F. Manganelli, D. Bruzzese, A. Colao, G. De Michele and P. E. Macchia (2019). "The flavor test is a sensitive tool in identifying the flavor sensorineural dysfunction in Parkinson's disease." *Neurol Sci*.
- Doty, R. L. (2012). "Olfaction in Parkinson's disease and related disorders." *Neurobiol Dis* **46**(3): 527-552.
- Doty, R. L. (2012). "Olfactory dysfunction in Parkinson disease." *Nat Rev Neurol* **8**(6): 329-339.
- Doty, R. L., D. A. Deems and S. Stellar (1988). "Olfactory dysfunction in parkinsonism: a general deficit unrelated to neurologic signs, disease stage, or disease duration." *Neurology* **38**(8): 1237-1244.

- Frasnelli, J., B. Schuster and T. Hummel (2007). "Interactions between olfaction and the trigeminal system: what can be learned from olfactory loss." *Cereb Cortex* **17**(10): 2268-2275.
- Frasnelli, J., B. Schuster, T. Zahnert and T. Hummel (2006). "Chemosensory specific reduction of trigeminal sensitivity in subjects with olfactory dysfunction." *Neuroscience* **142**(2): 541-546.
- Fullard, M. E., J. F. Morley and J. E. Duda (2017). "Olfactory Dysfunction as an Early Biomarker in Parkinson's Disease." *Neurosci Bull* **33**(5): 515-525.
- Goldberg, E. M., K. Wang, J. Goldberg and M. Aliani (2018). "Factors affecting the ortho- and retronasal perception of flavors: A review." *Crit Rev Food Sci Nutr* **58**(6): 913-923.
- Haehner, A., S. Boesveldt, H. W. Berendse, A. Mackay-Sim, J. Fleischmann, P. A. Silburn, A. N. Johnston, G. D. Mellick, B. Herting, H. Reichmann and T. Hummel (2009). "Prevalence of smell loss in Parkinson's disease--a multicenter study." *Parkinsonism Relat Disord* **15**(7): 490-494.
- Haehner, A., C. Masala, S. Walter, H. Reichmann and T. Hummel (2019). "Incidence of Parkinson's disease in a large patient cohort with idiopathic smell and taste loss." *J Neurol* **266**(2): 339-345.
- Heilmann, S., G. Strehle, K. Rosenheim, M. Damm and T. Hummel (2002). "Clinical assessment of retronasal olfactory function." *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* **128**(4): 414-418.
- Hummel, T., T. Futschik, J. Frasnelli and K. B. Huttenbrink (2003). "Effects of olfactory function, age, and gender on trigeminally mediated sensations: a study based on the lateralization of chemosensory stimuli." *Toxicol Lett* **140-141**: 273-280.
- Hummel, T., S. Heilmann, B. N. Landis, J. Reden, J. Frasnelli, D. M. Small and J. Gerber (2006). "Perceptual differences between chemical stimuli presented through the ortho- or retronasal route." *Flavour Fragrance Journal* **21**: 42-47.
- Hummel, T., G. Kobal, H. Gudziol and A. Mackay-Sim (2007). "Normative data for the "Sniffin' Sticks" including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an upgrade based on a group of more than 3,000 subjects." *Eur Arch Otorhinolaryngol* **264**(3): 237-243.
- Landis, B. N., H. Cao Van, N. Guinand, J. Horvath, A. Haehner, E. Savva, M. Hugentobler, J. S. Lacroix and P. R. Burkhard (2009). "Retronasal olfactory function in Parkinson's disease." *Laryngoscope* **119**(11): 2280-2283.
- Landis, B. N., R. Giger, A. Ricchetti, I. Leuchter, M. Hugentobler, T. Hummel and J. S. Lacroix (2003). "Retronasal olfactory function in nasal polyposis." *Laryngoscope* **113**(11): 1993-1997.
- Landis, B. N., C. G. Konnerth and T. Hummel (2004). "A study on the frequency of olfactory dysfunction." *Laryngoscope* **114**(10): 1764-1769.
- Landis, B. N., M. Scheibe, C. Weber, R. Berger, A. Bramerson, M. Bende, S. Nordin and T. Hummel (2010). "Chemosensory interaction: acquired olfactory impairment is associated with decreased taste function." *J Neurol* **257**(8): 1303-1308.
- Meshulam, R. I., P. J. Moberg, R. N. Mahr and R. L. Doty (1998). "Olfaction in neurodegenerative disease: a meta-analysis of olfactory functioning in Alzheimer's and Parkinson's diseases." *Arch Neurol* **55**(1): 84-90.

- Miller, K. M., C. C. Price, M. S. Okun, H. Montijo and D. Bowers (2009). "Is the n-back task a valid neuropsychological measure for assessing working memory?" *Arch Clin Neuropsychol* **24**(7): 711-717.
- Ponsen, M. M., D. Stoffers, J. Booij, B. L. van Eck-Smit, E. Wolters and H. W. Berendse (2004). "Idiopathic hyposmia as a preclinical sign of Parkinson's disease." *Ann Neurol* **56**(2): 173-181.
- Rahayel, S., J. Frasnelli and S. Joubert (2012). "The effect of Alzheimer's disease and Parkinson's disease on olfaction: A meta-analysis." *Behav Brain Res* **231**(1): 60-74.
- Riera, C. E., E. Tsaousidou, J. Halloran, P. Follett, O. Hahn, M. M. A. Pereira, L. E. Ruud, J. Alber, K. Tharp, C. M. Anderson, H. Bronneke, B. Hampel, C. D. M. Filho, A. Stahl, J. C. Bruning and A. Dillin (2017). "The Sense of Smell Impacts Metabolic Health and Obesity." *Cell Metab* **26**(1): 198-211 e195.
- Rombaux, P., A. Mouraux, S. Collet, P. Eloy and B. Bertrand (2009). "Usefulness and feasibility of psychophysical and electrophysiological olfactory testing in the rhinology clinic." *Rhinology* **47**(1): 28-35.
- Shah, M., J. Deeb, M. Fernando, A. Noyce, E. Visentin, L. J. Findley and C. H. Hawkes (2009). "Abnormality of taste and smell in Parkinson's disease." *Parkinsonism Relat Disord* **15**(3): 232-237.
- Shepherd, G. M. (2006). "Smell images and the flavour system in the human brain." *Nature* **444**(7117): 316-321.
- Small, D. M., J. C. Gerber, Y. E. Mak and T. Hummel (2005). "Differential neural responses evoked by orthonasal versus retronasal odorant perception in humans." *Neuron* **47**(4): 593-605.
- Tarakad, A. and J. Jankovic (2017). "Anosmia and Ageusia in Parkinson's Disease." *Int Rev Neurobiol* **133**: 541-556.
- Tremblay, C., P. Durand Martel and J. Frasnelli (2017). "Trigeminal system in Parkinson's disease: A potential avenue to detect Parkinson-specific olfactory dysfunction." *Parkinsonism Relat Disord* **44**: 85-90.
- Whitcroft, K. L., M. Cuevas, A. Haehner and T. Hummel (2017). "Patterns of olfactory impairment reflect underlying disease etiology." *Laryngoscope* **127**(2): 291-295.
- Yang, J. and J. M. Pinto (2016). "The Epidemiology of Olfactory Disorders." *Curr Otorhinolaryngol Rep* **4**(2): 130-141.